



**UNIVERSIDAD DE CUENCA**

**Facultad de Ciencias Agropecuarias**

**MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**TITULO:**

**Efecto de progesterona inyectable (p4) aplicada en el día 3 post-inseminación sobre el cuerpo lúteo y la fertilidad en vacas Brahman y Brown Swiss en el trópico ecuatoriano**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE MAGISTER EN REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**AUTOR: Mvz. Freddy Fausto Macas Apolo**

**DIRECTOR: Dr. Carlos Alonso Soria Parra**

**CUENCA, ECUADOR**

**2017**



## RESUMEN

En este estudio se evaluó el efecto que ocasiona aplicar progesterona exógena sobre el cuerpo lúteo, tres días después de haber realizado inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vacas Brahman y Brown Swiss situadas, con una edad comprendida entre 4 y 6 años con condición corporal entre 2,5 y 3 en la escala de 1 a 5.

Esta investigación se realizó en 29 vacas divididas en dos fincas ubicadas en la zona sur tropical del Ecuador; en una finca con 15 vacas Brahman (n=5 grupo testigo, n=5 grupo 75 mg, n=5 grupo 100 mg) y en otra 14 vacas Brown Swiss (n=5 grupo testigo, n=4 grupo 75 mg, n=5 grupo 100 mg). Se realizó ecografía para determinar el crecimiento del cuerpo lúteo (CL) de un día respecto a otro. También se procedió a extraer sangre de la vena coccígea a todas las vacas para establecer la concentración plasmática de Progesterona (P4) ng/ml.

El análisis estadístico para determinar niveles de P4 sérica y morfología del CL se efectuó mediante la prueba ANOVA y para determinar el diagnóstico de preñez se realizó mediante la prueba chi cuadrado, este diagnóstico se realizó con ecógrafo a los 60 días después de la inseminación, dando como resultado 40 % el grupo testigo, 44,4 % 75 mg y 50 % el grupo 100 mg. Sin embargo los tratamientos evaluados no presentaron diferencias significativas entre ellos ( $P > 0.05$ ), por lo tanto las diferentes dosis aplicadas no interfieren en el desarrollo del CL, por consiguiente no afecta de forma significativa en los porcentajes de preñez.

---

### PALABRAS CLAVE

PROGESTERONA, CUERPO LÚTEO, PROTAGLANDINA, ECOGRAFÍA.



## ABSTRACT

This study evaluated the effect of applying exogenous progesterone on the corpus luteum three days after artificial insemination at fixed time (IATF) in Brahman and Brown Swiss cows, aged 4 to 6 years with condition Body weight between 2.5 and 3 on the scale of 1 to 5.

This research was carried out on 29 cows divided into two farms located in the southern tropical zone of Ecuador; In a farm with 15 Brahman cows (n = 5 control group, n = 5 group 75 mg, n = 5 group 100 mg) and in another 14 Brown Swiss cows (n = 5 control group, n = 4 group 75 mg, n = 5 Group 100 mg). According to the chronogram that was established for this purpose, ultrasound was performed to determine the growth of the corpus luteum (CL) a day over another. It also proceeded to draw blood from the coccygeal vein in all cows for establish the plasma concentration of progesterone (P4) ng / ml.

Statistical analysis to determine serum P4 levels and CL morphology was performed using the ANOVA test and to determine the pregnancy diagnosis was performed using the chi-square test, this diagnosis was made with an ultrasound at 60 days after insemination, giving As a result 40% of the Witness group, 44.4% 75 mg and 50% of the 100 mg group. However the treatments evaluated did not present significant differences between them ( $P > 5$ ), therefore the different doses applied not interfere with development of CL therefore not significantly effect on pregnancy rate.

## KEYWORDS

PROGESTERONE, CORPUS LUTEUM, PROSTAGLANDIN, ULTRASOUND.



## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN .....	2
ABSTRACT .....	3
TABLA DE CONTENIDOS .....	4
LISTA DE TABLAS.....	8
LISTA DE FIGURAS .....	9
LISTA DE ANEXOS .....	10
ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA.....	13
CLÁUSULA DE DERECHOS DE AUTOR.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
AGRADECIMIENTOS .....	17
DEDICATORIA.....	18
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	19
CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	20
2.1. Endocrinología del ciclo estral.....	21
2.1.1. Hipotálamo .....	21
2.1.2. Hipófisis .....	22
2.1.3. Ovarios.....	22
2.1.3.1. Cuerpo lúteo.....	22
2.1.4. Útero .....	23
2.2. Fisiología del ciclo estral de la vaca.....	23
2.2.1. Fases del ciclo estral.....	23
2.2.1.1. Estro.....	23
2.2.1.2. Metaestro .....	23
2.2.1.3. Diestro.....	24
2.2.1.4. Proestro.....	24
2.2.2. Dinámica folicular .....	24
2.3. Hormonas de la reproducción .....	25
2.3.1. Estructura de las hormonas .....	26
2.3.2. Hormonas hipotalámicas.....	26
2.3.3. Hormonas Adenohipofisiarias .....	27



2.3.3.1. Hormona folículoestimulante.....	27
2.3.3.2. Hormona luteinizante .....	27
2.3.4. Hormonas esteroides gonadales.....	28
2.3.4.1. Estrógenos .....	28
2.3.4.2. Progesterona.....	29
2.3.5 Prostaglandina .....	30
2.4. Sincronización del celo y ovulación.....	31
2.4.1. Sincronización con prostaglandina F2 $\alpha$ .....	31
2.4.2. Protocolos con GnRH .....	32
2.4.3. Tratamiento pre-synch ovsynch .....	33
2.4.4. Utilización de dispositivos de liberación de progesterona .....	34
2.4.5. Protocolo con gonadotropina coriónica equina .....	34
2.4.6. Regulación de la progesterona síntesis y acción en el cuerpo lúteo bovino .....	36
2.4.7. Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo .....	36
2.4.8. Regresión luteal .....	37
2.5. Fisiología de la gestación.....	38
2.5.1 Gestación .....	38
2.5.2. Implantación.....	39
2.5.3 Reconocimiento materno embrionario .....	40
2.5.4. Alteración en proceso fecundación implantación .....	41
2.5.5. Suplementación con progesterona después del servicio .....	42
2.6. Principios básicos de ecografía.....	43
2.6.1. Ecografía reproductiva .....	43
2.6.1.1. Fundamento físico.....	43
2.6.1.2. Frecuencia .....	44
2.6.2. Formatos de imagen .....	45
2.6.2.1. Modo A (Amplitud) .....	45
2.6.2.2. Modo B (Brillo) .....	45
2.6.2.3. Modo M (Movimiento) .....	45



2.6.3. Ecografía tridimensional.....	46
2.6.4. Ecografía en cuatro dimensiones o 4D .....	46
2.6.5. Efecto doppler.....	47
2.6.6. Tipos principales de transductores.....	47
2.6.6.1. Transductores lineales .....	47
2.6.6.2. Transductores convexos .....	48
2.6.6.3. Transductores sectoriales .....	49
2.6.7. Patrones ecográficos .....	49
2.6.7.1. Hiperecogénico, hiperecoico .....	49
2.6.7.2. Hipoecogénico, hipoecoico .....	49
2.6.7.3. Anecogénico, anecoico .....	50
2.6.8. Ecografía del aparato reproductor de la hembra.....	50
2.6.9. Diagnóstico de gestación .....	51
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS .....	52
3.1. Materiales .....	53
3.1.1. Materiales biológicos.....	53
3.1.2. Materiales químicos .....	53
3.1.3. Materiales físicos .....	53
3.2. Ubicación .....	53
3.3. Características de la unidad de análisis.....	54
3.4. Metodología .....	54
3.4.1. Protocolo de IATF .....	54
3.4.2. Aplicación de progesterona exógena.....	55
3.4.3. Análisis de P4 sérica.....	55
3.4.4. Análisis morfológico del CL.....	56
3.5. Variables .....	56
3.5.1. Variables independientes.....	56
3.5.2. Variables dependientes.....	57
3.6. Diseño experimental y pruebas estadísticas.....	57
CAPITULO IV: RESULTADOS .....	58



4.1. Niveles de progesterona sérica.....	58
4.2. Morfología del cuerpo lúteo.....	60
4. 3. Diagnóstico de preñez .....	61
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....	63
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	67
6.1. Conclusiones.....	68
6.2. Recomendaciones .....	68
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	68
ANEXOS .....	79



## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de vacas en los grupos experimentales.....	54
Tabla 2. Protocolo de inseminación .....	54
Tabla 3. Protocolo de inseminación con adición de P4 exógena .....	55
Tabla 4. Cronograma de muestreo sanguíneo .....	55
Tabla 5. Cronograma de medición de CL.....	56
Tabla 6. Variables independientes .....	56
Tabla 7. Media y error estándar de la media ( $X \pm EEM$ ) de los niveles promedios de P4 plasmática (ng/ml), por tratamientos, razas y sus combinaciones, durante los días de medición.....	59
Tabla 8. Media y error estándar de la media ( $X \pm EEM$ ) del tamaño de CL (mm), por tratamientos, razas y sus combinaciones, durante los días de medición. ....	60
Tabla 9. Porcentaje de preñez de vacas aplicadas P4 exógena post-IA por tratamiento .....	61
Tabla 10. Porcentaje de preñez de vacas aplicadas P4 exógena post-IA por raza. ....	62





## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de la dinámica folicular del ciclo estral de la vaca (Lenis <i>et al.</i> , 2014). .....	25
Figura 2. Dinámica de la P4 durante el ciclo estral de la vaca (Lenis, 2014) .....	29
Figura 3. Dinámica de la PGF <sub>2α</sub> durante el ciclo estral de la vaca (Lenis <i>et al.</i> , 2014). .....	31
Figura 4. Emisión y recepción de ondas de US desde un transductor a órganos reproductivos (Perea, 2005). .....	45
Figura 5. Diseño de una sonda lineal (Diez, 1992). .....	48
Figura 6. Diseño de una sonda convexa (Diez, 1992). .....	48
Figura 7. Diseño de una sonda sectorial (Diez, 1992). .....	49
Figura 8. Lenguaje ecográfico (El autor) .....	50
Figura 9. Ultrasonografía de folículos (El autor) .....	51
Figura 10. Diagnóstico de preñez 40 días (El autor) .....	52
Figura 11. Ubicación de fincas donde se realizó la investigación (Google earth, 2016) .....	53



## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Niveles de progesterona (P4) expresada en ng/ml, durante los días de muestreo. ....	79
Anexo 2. Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición de la P4 plasmática por tratamiento.....	80
Anexo 3. Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición de la P4 plasmática por raza.....	81
Anexo 4. Test de Homogeneidad de las varianzas de Levene durante los días de medición de la P4 plasmática por tratamiento.....	82
Anexo 5. Test de Homogeneidad de la varianzas de Leven durante los días de medición de la P4 plasmática por raza.....	82
Anexo 6. ANOVA para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados entre los tratamientos.....	83
Anexo 7. Prueba de Kruskal Wallis para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal entre los tratamientos.....	83
Anexo 8. Prueba ANOVA para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados por razas. ....	84
Anexo 9. Prueba U de Mann Whitney para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal por razas. ....	84



Anexo 10. Morfología del CL expresado en mm, durante los días que se realizó medición con US. ....	85
Anexo 11. Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición del CL por tratamiento.....	86
Anexo 12. Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición del CL por raza.....	87
Anexo 13. Test de Levene para homogeneidad de las varianzas en los días de medición del CL por tratamiento.....	87
Anexo 14. Test de Levene para homogeneidad de las varianzas en los días de medición del CL por raza.....	88
Anexo 15. Prueba ANOVA para evaluación de morfología del CL durante los días investigados entre los tratamientos. ....	88
Anexo 16. Prueba Kruskal Wallis para evaluación de morfología del CL durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal entre los tratamientos.	89
Anexo 17. Prueba ANOVA para evaluación de morfología del CL durante los días investigados por raza. ....	89
Anexo 18. Prueba U de Mann Whitney para evaluación de morfología del CL durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal por raza. .	90
Anexo 19. Chi-cuadrado en porcentaje de preñez por tratamiento. ....	90
Anexo 20. Chi-cuadrado en porcentaje de preñez por raza. ....	90
Anexo 21. Ecografía transrectal. ....	91
Anexo 22. Muestreo sanguíneo.....	92
Anexo 23. Centrifugación de muestras. ....	92



Anexo 24. Evolución de crecimiento del CL .....	93
---	----



## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

ACTH	Hormona adenocorticotropa
BE	Benzoato de estradiol
bINT- $\tau$	Interferón trofoblástico bovino
CEEP	Células endometriales epiteliales bovinas
CEES	Células endometriales estromales bovinas
CRH	Hormona liberadora de corticotropina
CL	Cuerpo lúteo
CIDR	Dispositivo intravaginal bovinos
ECP	Cipionato de estradiol
E <sub>2</sub>	17 $\beta$ -Estradiol
FSH	Hormona folículoestimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
GRH	Hormona liberadora de crecimiento
Hz	Hertz
IA	Inseminación artificial
IATF	Inseminación artificial a tiempo fijo
MHz	Megahercio
mcg	Microgramos
mg	Miligramos



mm	Milímetros
msnm	Metros sobre el nivel del mar
ng/ml	Nanogramos/mililitros
Ox	Oxitocina
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandina
PIH	Hormona liberadora de prolactina
P4	Progesterona
TRH	Hormona liberadora de tirotropina
UI	Unidades internacionales
US	Ultrasonido
VE	Valerato de estradiol
ZP	Zona pelúcida



*Freddy Fausto Macas Apolo*, autor de la tesis "Efecto de progesterona inyectable (P4) aplicado en el día 3 post inseminación sobre el cuerpo lúteo y la fertilidad en vacas Brahman y Brown Swiss en el trópico ecuatoriano", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Magister en Reproducción Animal. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 03 de febrero 2017

Freddy Fausto Macas Apolo

0704492081



Universidad de Cuenca  
Clausula de propiedad intelectual

---

*Freddy Fausto Macas Apolo*, autor de la tesis "Efecto de progesterona inyectable (P4) aplicado en el día 3 post inseminación sobre el cuerpo lúteo y la fertilidad en vacas Brahman y Brown Swiss en el trópico ecuatoriano", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 03 de febrero 2017

Freddy Fausto Macas Apolo

0704492081





## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ricardo Alberio por su participación activa para la realización de esta tesis, al Dr. Carlos Soria por haber compartido su conocimiento y experiencia. Al Dr. Andrés Galarza por aportar con su conocimiento para la finalización de este proyecto. A la Universidad y cuerpo docente por contribuir con mi formación como profesional.

A mi primo Mario Guanuche y su familia por su apoyo incondicional para la realización de este postgrado.

Freddy Macas Apolo



## DEDICATORIA

A Dios por regalarme la vida y disfrutar de ella.

A mi esposa e hijo que han sido pilar fundamental en los diversos momentos de mi vida y apoyo incondicional, motivo de inspiración para superar obstáculos y emprender objetivos en la vida.

A mi papá y hermanos, que siempre me han incentivado a seguir adelante.

Freddy Macas Apolo.



## CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores problemas en las explotaciones de ganado lechero y cárnico es una mala reproducción. Bajos porcentajes de fertilidad y altos números de días abiertos provocan pérdidas económicas muy importantes (Sosa, 2000).

Bó, & Cutaia (s.f) afirma que la actual situación de la ganadería exige a los productores máxima eficiencia para garantizar el retorno económico. La optimización de la eficiencia reproductiva es uno de los principales factores que contribuyen para mejorar las ganancias. A pesar de haber consenso general entre los productores y técnicos de que la Inseminación Artificial (IA) es la técnica más apropiada para acelerar el avance genético y el retorno económico en una explotación de cría, el porcentaje del rodeo bovino incluido en estos esquemas en el mundo continúa siendo bajo.

Muchas de las pérdidas embrionarias tempranas son, entre otras razones, el no reconocimiento de preñez por parte del útero por incapacidad del embrión para evitar la regresión del cuerpo lúteo (Hernández, 2000). Si no se produce este reconocimiento se produce la desaparición del cuerpo lúteo, a causa de la acción luteolítica de la prostaglandina  $\text{PGF}_{2\alpha}$  que proviene del útero. Luego de esto la vaca entra nuevamente en estro y vuelve a ser montada o servida por hasta lograr ser preñada (Hafez, 1996).

Una baja fertilidad en el hato lechero representa un costo considerable para los productores y puede deberse a la pérdida embrionaria temprana (Gordon, 2004).

La muerte embrionaria temprana contribuye con la mayor proporción de pérdidas de gestaciones (40-60%), la muerte embrionaria tardía lo hace con 10-15% y la muerte fetal con 5-15%. Las causas de las pérdidas de gestaciones son de naturaleza diversa y están asociadas con la alta producción de leche, la profundidad del balance energético negativo, problemas del puerperio, momento de la inseminación, las características de la dieta, el estrés calórico, las infecciones uterinas, factores genéticos y causas endocrinológicas (Hernández, 2000).



Con la suplementación exógena de P4 se determina el efecto que tiene sobre la funcionalidad y morfología luteal en condiciones climáticas tropicales, que posteriormente incide en los porcentajes de preñez del hato ganadero.

En este estudio se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general: mejorar la tasa de preñez con aplicación de progesterona inyectable en el día tres post inseminación en Brahman y Brown Swiss y comparar su comportamiento.

Objetivo específico:

1. Determinar el crecimiento y funcionalidad del cuerpo lúteo después de la aplicación de progesterona inyectable tres días después de la IATF en cada grupo racial.
2. Determinar el índice de fertilidad en las vacas sometidas al estudio, en comparación con el grupo testigo.

## CAPITULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



## 2.1. Endocrinología del ciclo estral

Lenis *et al.*, (2014) indican que el sistema nervioso está encargado de la regulación de las funciones reproductivas en la vaca; el tálamo e hipotálamo ubicados en el diencéfalo, contienen los núcleos neuronales que se especializan en la producción de neurotransmisores. Estos núcleos regulan la síntesis de las hormonas reproductivas producidas en la hipófisis y de allí viajan hacia los ovarios para estimularlos e iniciar la producción de hormonas ováricas. Es aquí cuando completamos el eje hipotálamo - hipófisis - gónadas.

El mismo autor hace referencia que la FSH estimula la producción de 17- $\beta$  estradiol ( $E_2$ ) y el crecimiento de folículos emergentes, cuyo diámetro en promedio es de 3 mm aproximadamente, iniciando el reclutamiento de una cohorte folicular nueva, de donde será seleccionado el folículo que ovulará un occito. Por otro lado, la LH ejerce un efecto de luteinización de folículos, es decir, además de favorecer el crecimiento, induce cambios celulares intrafoliculares.

Cuando el folículo alcanza un tamaño mayor de 8 mm, llega a su máximo nivel de producción de  $E_2$ , el cual viaja por vía sanguínea hacia el hipotálamo y allí induce la estimulación del centro de pico de GnRH para la liberación de LH, de manera que esta última se libere masivamente al torrente sanguíneo y llegue al ovario a desencadenar la producción de progesterona ( $P_4$ ) y la ovulación (Lenis *et al.*, 2014).

### 2.1.1. Hipotálamo

El hipotálamo ocupa solo una pequeña parte del cerebro. Esta consiste en una región del tercer ventrículo, que se extiende desde el quiasma óptico hasta los cuerpos mamilares. El hipotálamo es asiento de varios núcleos de neuronas que establecen relaciones de integración entre las actividades somáticas y viscerales del cuerpo, y conectan respuestas ante estímulos provenientes del ambiente. En los mamíferos, incluido el hombre, todas las funciones orgánicas están influidas directa o indirectamente por el hipotálamo (Hafez & Hafez 2002).

Las hormonas hipotalámicas son las siguientes: hormona liberadora de corticotropina CRH, hormona liberadora de tirotropina TRH, hormona liberadora de



gonadotropina GnRH, hormona liberadora de prolactina PIH, somatostatina y hormona liberadora de la hormona del crecimiento GRH (Illera, 1994).

### **2.1.2. Hipófisis**

Compuesta por dos partes diferenciadas:

La adenohipófisis que produce varias de hormonas, de las cuales la hormona FSH y LH cumplen un papel relevante en el control neuroendocrino del ciclo estral (Conbarnous, 1988, citado por Bousfield *et al.*, 1994). La FSH es la responsable del proceso de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular y la LH interviene en el proceso de esteroidogénesis ovárica, ovulación, formación del CL y mantenimiento del mismo (Hafez, 1996).

La neurohipófisis almacena la oxitocina producida en el hipotálamo (Hafez, 1996). Esta hormona tiene varias funciones entre ellas la regulación del mecanismo del parto (Bazer y first, 1983), de la bajada de leche (Tucker, 1994) y del proceso de luteólisis (Bazer, 1992).

### **2.1.3. Ovarios**

Son órganos productores de gametos en la hembra, que además de producir hormonas que participan en la endocrinología del ciclo estral, son responsables de las manifestaciones fisiológicas en las fases del ciclo. En la mayoría de los casos, poseen una forma ovoide; sin embargo, debido a los cambios cíclicos que sufren, su superficie es irregular, y su tamaño varía entre 1 y 10 cm de longitud (Lenis *et al.*, 2014).

#### **2.1.3.1. Cuerpo lúteo**

Es una estructura endocrina de color amarillo que aparece como resultado de la ovulación de un folículo. La LH es la principal hormona responsable de los cambios celulares dentro del folículo, para que este sea transformado en un cuerpo lúteo (CL). La principal función del CL, es la producción de P4, hormona que participa en el mantenimiento de una eventual gestación. En el caso que la vaca no quede gestante, el CL deberá sufrir luteólisis funcional y estructural, para iniciar un nuevo ciclo estral (Lenis *et al.*, 2014).

La descripción de folículos se realizará en la *Fisiología del ciclo estral de la vaca*.



#### **2.1.4. Útero**

Hafez & Hafez, (2002) describen que el útero consta de dos cuernos uterinos y un cuerpo, tiene un tabique que separa los dos cuernos, y un cuerpo uterino prominente. Ambos lados del útero están unidos a las paredes pélvicas y abdominales por el ligamento ancho.

Como órgano hueco, consta de tres capas: mucosa o endometrio, muscular o miometrio y serosa o perimetrio. Es el componente fundamental del aparato genital femenino que tiene como función el asentamiento e implantación del óvulo en caso de ser fecundado, así como el desarrollo de la placenta y el feto. (Gázquez & Rodríguez, 2004).

### **2.2. Fisiología del ciclo estral de la vaca**

#### **2.2.1. Fases del ciclo estral**

El ciclo estral se divide en 4 etapas y es el tiempo que ocurre entre dos periodos estrales, también llamado celo o calor, y varía normalmente entre 17 a 24 días, considerándose 21 días como el tiempo promedio. Ciclos estrales inferiores a este tiempo se consideran anormales mientras que los más largos probablemente se deba a una falla en la detección de calores (Duby & Prange, 2004, citado por Rippe, 2009).

##### **2.2.1.1. Estro**

Esta fase se caracteriza por la receptividad de la hembra al macho, tiene una duración de 2 a 24 horas, la vaca manifiesta inquietud, ansiedad, brama con frecuencia y pierde el apetito. (McDonald, 1978; Luque *et al.*, 1983, Holy, 1983., Bonafos y Ginther, 1995; Hafez 1996; citado por Rutllant *et al.*, 1997.) En esta etapa, los estrógenos en altas concentraciones provocan un pico de GnRH y en consecuencia el pico preovulatorio de LH (Kesner *et al.*, 1981 citado por Fink 1988).

##### **2.2.1.2. Metaestro**

Esta etapa dura de 4 a 5 días y es cuando comienza la formación del cuerpo hemorrágico que posteriormente dará origen al CL, este secretará P4. En esta etapa



se presenta también la primera oleada folicular, que dará origen a un folículo dominante y a varios subordinados (Alarcón & Galina, 2009).

#### 2.2.1.3. Diestro

Esta fase se caracteriza por el predominio del CL. La LH interviene en el desarrollo y mantenimiento del mismo (Peters *et al.*, 1994 citado por Vizcarra *et al.*, 1997). Su secreción pulsátil es necesaria para mantener los niveles de P4 en los primeros 12 días del ciclo estral (Peters *et al.*, 1994). Posteriormente dicha secreción pulsátil no sería necesaria y sería regulada por bajas concentraciones de LH o por mecanismos independientes de dicha hormona (Wiltbank, 1994).

#### 2.2.1.4. Proestro

Este periodo dura 3 días, comienza con la regresión del CL del ciclo anterior y finaliza con la manifestación del celo. En el momento de la regresión luteal se produce una rápida disminución en el peso del CL en el contenido de ADN y en el tamaño de las células (Zheng *et al.*, 1994).

#### 2.2.2. Dinámica folicular

Del Valle, (2008) define la dinámica folicular como el proceso continuo de crecimiento y desarrollo de folículos antrales, que conlleva al desarrollo del folículo pre-ovulatorio. Cada onda de desarrollo folicular involucra las siguientes fases sucesivas: La de reclutamiento, selección y dominancia.

De la misma forma Intervet, (2007) considera que para comprender este proceso, se debe conocer estas etapas, tal como describe a continuación:

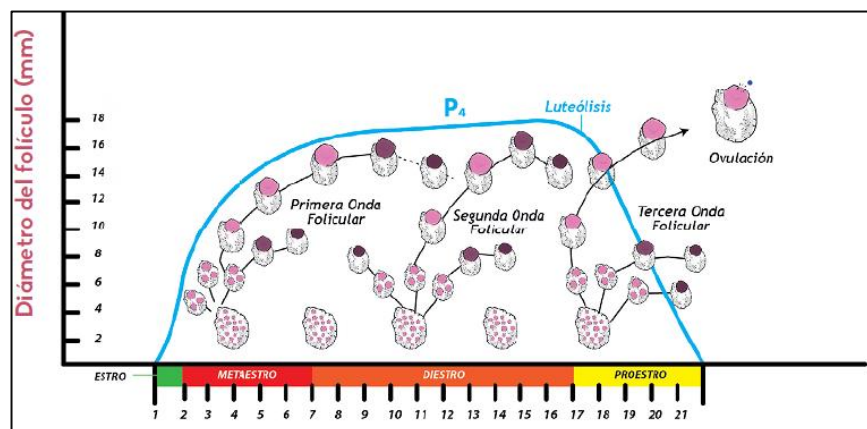
**Reclutamiento:** las ondas foliculares se ven precedidas de un pequeño pico de FSH, todos los folículos que crecen como cohorte contienen receptores específicos para la FSH y dependen de esta gonadotropina para crecer. En esta etapa, los folículos en crecimiento no disponen de un número suficiente de receptores de LH para responder a una estimulación de tipo LH, razón por la cual esta fase del crecimiento recibe a veces el nombre de FSH dependiente.

**Selección:** por razones que todavía no se comprenden en su totalidad, sólo es seleccionado un folículo dominante de la cohorte reclutada por el pequeño pico de FSH. Una característica definitoria del folículo dominante parece ser su mayor



capacidad para la producción de estradiol. Este adquiere receptores de LH que permiten que siga creciendo en el entorno con niveles bajos de FSH y crecientes de LH (Ginther *et al.*, 2000).

**Dominancia:** tras su selección, el crecimiento, la actividad estrogénica y el plazo de vida de un folículo dominante son controlados por el patrón de pulsos de la LH. Así, cualquier cambio en el patrón de secreción de la GnRH y, por tanto, en el de la LH, tendrá un marcado efecto sobre el crecimiento continuo del folículo dominante y su ovulación. Ahora se sabe que la mayor frecuencia de los pulsos de LH vistos tras los tratamientos con progestágenos, por ejemplo, prolongarán el periodo de dominancia de este folículo de 2-7 días hasta más de 14 días, lo que afecta a la fertilidad del ovocito (Diskin *et al.*, 2002).



**Figura 1.** Representación esquemática de la dinámica folicular del ciclo estral de la vaca (Lenis *et al.*, 2014).

### 2.3. Hormonas de la reproducción

Se derivan primordialmente de cuatro sistemas u órganos principales: varias áreas del hipotálamo, lóbulo anterior y posterior de la hipófisis, gónadas (testículo y ovario, incluido su tejido intersticial y CL), útero y placenta (Hafez & Hafez 2002).



### 2.3.1. Estructura de las hormonas

El mismo autor hace referencia que las hormonas reproductivas se agrupan según su estructura bioquímica, en glucoproteínas, polipéptidos, esteroides, ácidos grasos y aminos y de acuerdo su estructura química se dividen en:

**Proteínas**, hormonas polipeptídicas con un peso molecular de 300 a 70.000 daltons, como la oxitocina, FSH y LH.

**Esteroides**, derivados del colesterol con un peso molecular de 300 a 400 daltons, por ejemplo, testosterona, estrógeno y P4.

**Ácidos grasos**, derivados del ácido araquidónico, con un peso molecular alrededor 400 daltons, por ejemplo,  $\text{PGF}_{2\alpha}$

**Aminas**, derivados de tirosina o triptófano, como por ejemplo, la melatonina.

### 2.3.2. Hormonas hipotalámicas

Para Ramírez (2006)<sup>a</sup>, las hormonas hipotalámicas se denominan: **liberadoras**, en la medida en que su presencia estimula la liberación o secreción de las hormonas producidas por el tejido glandular de la hipófisis, y en **Inhibidoras**, en la medida en que su acción es inhibir o impedir la liberación de determinadas hormonas hipofisarias.

El mismo autor señala que las hormonas hipotalámicas identificadas son: CRH: liberadora de adrenocorticotrofina, TRH: liberadora de tirotrófina, GnRH: liberadora de gonadotrofinas, STH-RH: liberadora de somatotrofina, Somatostatina: inhibidora de la somatotrofina, Dopamina: inhibidora de la prolactina y MIH: inhibidora de la hormona estimulante de los melanocitos. Algunas de esas hormonas hipotalámicas también son secretadas por otras zonas del encéfalo u otros tejidos del cuerpo.

Debido al enorme mercado potencial para los tratamientos hormonales y las ventajas económicas de su aplicación, la industria farmacológica además del decapeptido natural ha desarrollado diversos análogos y agonistas (producidos artificialmente) de diversa potencia, como la buserelina sintética. La buserelina es 17 veces más potente que la GnRH natural debido a su menor tasa de degradación y mayor vida media (mayor duración en circulación). Otro agonista de la GnRH, el



fertirelin se obtiene por substitución de aminoácidos en las posiciones tres, seis y nueve (Gutiérrez *et al.*, 2005).

### **2.3.3. Hormonas Adenohipofisiarias**

Las gonadotropinas FSH y LH también denominada luteotropina, son glucoproteínas que se sintetizan y liberan en las células cianófilas del lóbulo anterior de la hipófisis, bajo la influencia de la GnRH. La acción de las gonadotropinas se ejerce, como se desprende de su nombre a nivel de las gónadas estrógeno y P4 en la hembra, testosterona en el macho (Illera, 1994).

La secreción basal de FSH y LH es pulsátil, siendo interrumpida por un pico masivo de LH durante el estro, el cual es disparado por un pico de GnRH, ocasionado por la mayor liberación de E<sub>2</sub> durante el proestro *feedback* positivo (Gutiérrez, 2008).

Los agentes opiáceos exógenos causan disminución, tanto de la frecuencia como de los niveles o de los picos de secreción de LH. Este hecho puede tener importancia cuando se relaciona con el estrés y con la consecuente secreción de opioides endógenos; por ejemplo, durante los primeros días postparto por efecto del amamantamiento sobre la inhibición de la función reproductiva (Williams *et al.*, 1996).

#### **2.3.3.1. Hormona folículoestimulante**

Estimula el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos y la secreción de la hormona femenina denominada estrógenos, permitiendo la aparición del celo en las hembras. En los machos estimula la formación de espermatozoides por los testículos (Ramírez, 2006)<sup>b</sup>.

#### **2.3.3.2. Hormona luteinizante**

Illera, (1994) refiere a esta hormona por ser la responsable de la transformación de los folículos preovulatorios en verdaderos cuerpo lúteos. Estimula a las células de la teca del ovario para que produzcan precursores estrogénicos, al comienzo de la fase folicular, cuando las células de la granulosa solamente poseen receptores para FSH y no responden aún a la LH. Mediante la acción conjunta de la FSH y los estrógenos, las células de la granulosa adquieren receptores LH, que responden a



la estimulación de la hormona luteinizante. Después de la ovulación, las células lúteas secretan P4, en respuesta al estímulo de la LH.

En el macho, la LH estimula a las células intersticiales de Leyding para que produzcan testosterona, esta hormona interviene en la espermatogénesis y mantiene el aparato reproductor y las características sexuales secundarias del macho (Illera, 1994).

#### **2.3.4. Hormonas esteroides gonadales**

Los ovarios y los testículos secretan primordialmente hormonas esteroides gonadales. También los órganos no gonadales como las glándulas suprarrenales y la placenta secretan hormonas esteroides en cierta medida. Estas son de 4 tipos: andrógenos, estrógenos, progestinas y relaxina. Los tres primeros tipos son esteroides mientras que el cuarto es una proteína. Los ovarios producen dos hormonas esteroides: estradiol y progesterona y una hormona proteica, la relaxina, los testículos secretan una sola hormona, la testosterona (Hafez & Hafez 2002).

##### **2.3.4.1. Estrógenos**

Los estrógenos son producidos por los ovarios y, en menores cantidades, por las glándulas adrenales. Inducen fenómenos de proliferación celular sobre los órganos, principalmente endometrio, mama y el mismo ovario. Los estrógenos presentan su mayor concentración los primeros 7 días de la menstruación. La principal NATURAL es el  $17\beta$ -estradiol. Es sintetizada principalmente en las células de la granulosa de los folículos dominantes. También en la placenta, corteza suprarrenal y células de Sertoli en machos (Pascual, I. sf).

Según Gutiérrez, (2008) los diferentes tipos de estrógenos disponibles en el mercado son los siguientes:

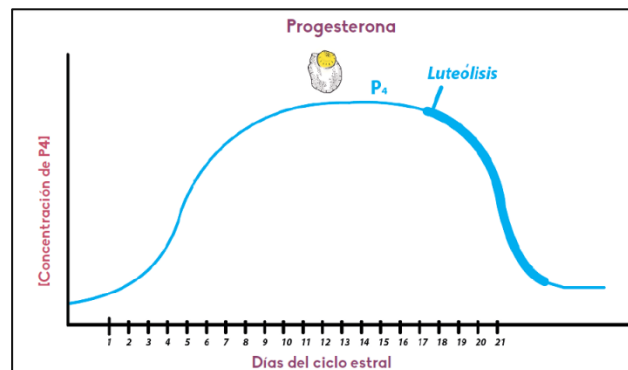
- $17\beta$ -Estradiol. Estrógeno natural, vida media muy corta (24-36 horas)
- Benzoato de Estradiol. Se caracteriza por ser de vida media corta (3 días)
- Valerato de Estradiol. Tiene vida media larga, variando entre 7 a 9 días
- Cipionato de Estradiol. Posee vida media muy larga, entre 10 a 12 días.

### 2.3.4.2. Progesterona

Hafez & Hafez, (2002) describen a la P4 como el progestágeno natural más prevalente y es secretada por células lúteas del cuerpo amarillo, la placenta y la glándula suprarrenal. La secreción de la P4 es estimulada por la LH principalmente. Este autor señala las siguientes funciones:

- Prepara el endometrio para la implantación mantenimiento de la preñez, lo cual aumenta la actividad de las glándulas secretorias en el endometrio e inhibe la movilidad del miometrio.
- Actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el comportamiento estral.
- En concentraciones altas, inhibe el estro y la oleada ovulatoria de LH.
- Bearden & Fuquay (1982), agrega que la P4 mantiene la preñez por inhibición de las contracciones uterinas y promoción del desarrollo glandular en el endometrio y promover el desarrollo alveolar de las glándulas mamarias. Además agrega que tiene acciones sinérgicas los estrógenos y los progestágenos en la preparación del útero para la preñez y las glándulas mamarias para la lactancia.

La P4 natural tiene una vida media muy corta, apenas entre 3-4 minutos, lo que implica la necesidad de utilizar altas dosis. Una alternativa es imitar la fase luteal del ciclo, utilizando progestágenos o análogos de la P4, los cuales requieren dosis menores, sin producir efectos secundarios (Gutiérrez, 2008).



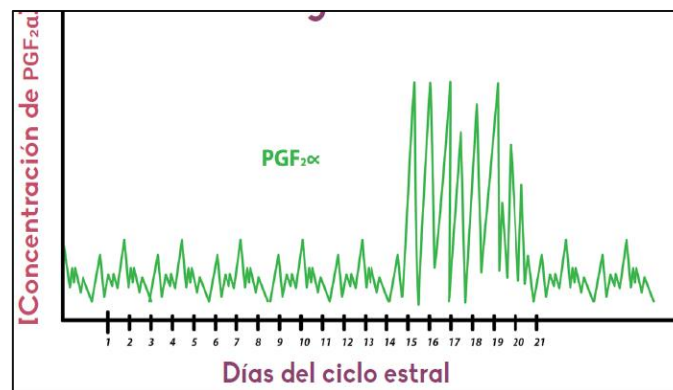
**Figura 2.** Dinámica de la P4 durante el ciclo estral de la vaca (Lenis, 2014)



### 2.3.5 Prostaglandina

Los prostanoides son metabolitos obtenidos del ácido araquidónico a través de la vía metabólica conocida como ciclooxigenasa. Uno de ellos es la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , sustancia con actividad marcada sobre el control del ciclo estral. Estructuralmente es un ácido graso insaturado compuesto por 20 átomos de carbono. Contiene un anillo ciclopentano y dos cadenas laterales. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  se produce en el endometrio, siendo transportada por un mecanismo de contracorriente desde la vena uterina hasta la arteria ovárica, ejerciendo su acción específica o luteólisis sobre el CL del ovario. También provoca contracciones uterinas favoreciendo el transporte de espermatozoides y el parto (Gutiérrez, 2008).

Este autor agrega que se han producido análogos de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  natural o análogos sintéticos (tiaprost, cloprostenol, fenprostaleno), responsables de inducir la luteólisis hacia el final del diestro o durante la gestación (Adams, 2001). El cloprostenol es un análogo sintético de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  que posee isomería óptica D y L, de los cuales, el isómero D es 3 a 4 veces más potente que el L porque tiene mayor afinidad por el receptor; provoca una rápida regresión del CL, al mismo tiempo que estimula la musculatura uterina y la relajación del cérvix. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  también se comercializa como sal de trometamina (Dinoprost). La única actividad útil que desarrolla la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  o sus análogos es la de inducir una luteólisis prematura y en consecuencia, una caída de los niveles de  $\text{P}_4$ ; al desaparecer el feed back negativo se reanuda una secuencia de eventos hormonales y ováricos que deben culminar en un celo ovulatorio.



**Figura 3.** Dinámica de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  durante el ciclo estral de la vaca (Lenis *et al*, 2014).

#### 2.4. Sincronización del celo y ovulación

Según Patterson *et al* (2000), tomado de Becaluba (2006) la evolución de los métodos para el control del ciclo estral en la vaca, puede ser ordenado en 5 fases distintas. La primera comprende en investigaciones con el sentido de prolongar la fase lútea a través de la administración de  $\text{P4}$  exógena. Con el tiempo estos métodos pasaron a contar con una asociación de estrógenos y gonadotropinas. La tercera fase está caracterizada por la utilización de prostaglandinas con el fin de acortar la fase lútea, la cuarta fase sería aquella en la que fueron desarrollados los métodos con la asociación de progestágenos y prostaglandinas. La denominada quinta fase surgió por estudios más recientes de las ondas foliculares que mostraron que el control del ciclo estral en la vaca requiere la manipulación no solo de la fase lútea sino también del crecimiento folicular.

##### 2.4.1. Sincronización con prostaglandina $\text{F2}\alpha$

La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ha sido el tratamiento comúnmente utilizado para la sincronización del celo en bovinos (Odde, 1990). Los primeros estudios mostraron que la madurez del CL en el momento del tratamiento con  $\text{PGF}_{2\alpha}$  influenciaba la respuesta luteolítica y que la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  no inducía la luteólisis de manera efectiva durante los primeros 5 a 6 días después del celo. Además, en los bovinos en los que la luteólisis no se producía, el comienzo del celo se distribuía por un periodo de 6 días (Macmillan & Henderson, 1984).



Si se administra  $\text{PGF}_{2\alpha}$  cuando el folículo dominante de una onda se encuentra en la última fase de crecimiento o en la primera fase estática, la ovulación se producirá entre 3 y 4 días. Por otro lado, el tratamiento con  $\text{PGF}_{2\alpha}$  administrado cuando el folículo dominante se encuentra en la fase estática media a tardía es decir cuando no es viable, producirá la ovulación del folículo dominante de la próxima onda folicular entre 5 y 7 días más tarde (Kastelic & Ambrose, 2004). El mismo autor agrega también que este intervalo refleja el tiempo necesario para que el folículo dominante de la onda nueva crezca y se desarrolle con un tamaño preovulatorio y afirma que la detección eficaz del celo es esencial para lograr altas tasas de preñez en programas de IA.

El tiempo que transcurre desde su inyección hasta el inicio del celo suele fluctuar entre 2 y 5 días y depende en cierta medida del estado de desarrollo del cuerpo lúteo, pero principalmente de la dinámica folicular o tamaño del folículo al momento del tratamiento. Por ejemplo, si al momento de colocar la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  se encuentra presente un folículo preovulatorio no atrésico, la expresión del celo y la ovulación se dará en menos de 48 horas; mientras que si se encuentra en etapa de desviación hacia la dominancia, éste requerirá del tiempo necesario para su desarrollo final y maduración; por lo tanto la expresión del celo puede variar entre 48 a 96 horas. Si la vaca se encuentra en etapa de reclutamiento de una nueva onda folicular, el tiempo para la expresión del celo puede demorar hasta 120 horas (Gutiérrez, 2008).

#### **2.4.2. Protocolos con GnRH**

Estos protocolos de tratamiento consisten de una inyección de GnRH seguida de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  7 días más tarde y una segunda inyección de GnRH 48 horas después del tratamiento con  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . En los protocolos Co-Synch, las vacas son inseminadas a tiempo fijo al momento de la segunda GnRH (Geary *et al.*, 2001), mientras que en los protocolos Ovsynch, las vacas son inseminadas a tiempo fijo 16 horas después de la segunda GnRH (Pursley *et al.*, 1995). Varios reportes demostraron que los protocolos Ovsynch producen tasas de preñez similares a las que se obtienen en las vacas que fueron sincronizadas con  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e inseminadas 12 horas después de detectado el celo (Burke *et al.*, 1996). Por lo tanto, esta técnica se utiliza en gran





medida para inseminar vacas de leche, la utilización del protocolo Ovsynch no tuvo éxito para sincronizar las vacas en anestro posparto (Caravielo *et al.*, 2006).

Este protocolo induce aparentemente la ovulación en un alto porcentaje de vacas de leche en anestro, pero algunas de estas vacas tienen una fase luteal posterior más reducida (Gumen *et al.*, 2003), lo que produce tasas de concepción menores que en las vacas cíclicas (Moreira *et al.*, 2001). En los últimos años, varios grupos de los Estados Unidos han combinado la utilización de un dispositivo de liberación de P4 con el protocolo Ovsynch en vacas de leche no cíclicas. En este protocolo, las vacas tienen el dispositivo de liberación de P4 colocado en la vagina en el momento en que se coloca la primera inyección de GnRH del protocolo Ovsynch y el dispositivo se retira durante el tratamiento con  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . (Pursley *et al.*, 2001). Una revisión reciente se demostró que los resultados varían sorprendentemente, pero en general las diferencias rondan en el entre el 6 al 8% (Stevenson *et al.*, 2006).

#### **2.4.3. Tratamiento pre-synch ovsynch**

Se ha demostrado recientemente que la fase del ciclo estral en el momento en el que se administra la GnRH afecta los resultados del programa Ovsynch (Vasconcelos *et al.*, 1999). Si se administra GnRH durante la primera fase de crecimiento del folículo dominante, es posible que no se produzca la ovulación en respuesta a liberación de LH, en cuyo caso, no se sincronizará la emergencia de la onda folicular.

Moreira *et al.*, (2001) sugirieron que los bovinos responderán de manera más consistente a los protocolos con GnRH si éstos se inician entre los días 5 y 12 del ciclo; esto se puede lograr con la pre-sincronización antes de la primera inyección de GnRH. Se ha demostrado que la pre-sincronización con una o con dos dosis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (con una diferencia de 14 días) mejora las tasas de preñez en los protocolos de IATF con GnRH. Sin embargo, es poco probable que los tratamientos con  $\text{PGF}_{2\alpha}$  mejoren la reproducción en vacas de leche no cíclicas, lo cual parece ser el caso según estudios previos (Moreira *et al.*, 2001). Además, con este tratamiento no pudimos mejorar las tasas de preñez en las vacas de leche en lactancia en un



sistema pastoril, al mismo nivel que cuando se le agrego al Ovsynch la inserción de un dispositivo de liberación de P4 entre los Días 0 y 7 (Veneranda *et al.*, 2008).

#### **2.4.4. Utilización de dispositivos de liberación de progesterona**

La utilización de dispositivos intravaginales o subcutáneos para la administración de progestágenos representa un método sencillo y efectivo. La hormona presente en estos dispositivos es liberada en forma lenta y progresiva siendo absorbida por los tejidos adyacentes, pasando al torrente circulatorio y bloqueando el estro y la ovulación (Soto, 2001).

Estos productos actúan como un CL exógeno, que igualmente inhibe la secreción de gonadotropinas y por lo tanto, el desarrollo folicular. Al retirar los tratamientos, cesa el bloqueo progesterónico sobre el hipotálamo, desencadenando la liberación de gonadotropinas y el inicio de un ciclo normal, ovulatorio y potencialmente fértil; la respuesta es válida, incluso en etapas tempranas del postparto lo que permite acortar los intervalos de anestro postparto en vacas doble propósito (Gutiérrez *et al.*, 2008), tanto en vacas multíparas como en las de primer parto.

Gutiérrez *et al.*, (2006) subraya que los tratamientos con progestágenos que incluyen estrógenos en el protocolo, permiten la sincronización de la ovulación y el establecimiento de la IATF en ganaderías doble propósito, con tasa de preñez similar a la obtenida al celo detectado. Esa respuesta permite prescindir de la detección del celo, que representa la principal limitante para el éxito de la IA.

#### **2.4.5. Protocolo con gonadotropina coriónica equina**

La hormona gonadotropina coriónica equina (eCG), se descubrió cuando la sangre de yeguas preñadas producía maduración sexual en ratas inmaduras. La eCG es una glucoproteína con subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH, pero con un mayor contenido de carbohidratos especialmente ácido siálico (Hafez & Hafez 2002).

La eCG tiene acción de FSH en mayor grado y LH en menor grado. Estimula el crecimiento de los folículos gracias a su efecto FSH y ayuda, en menor medida, en el proceso de ovulación.



En protocolos para IATF se trabaja en una sola dosis, este producto está indicado cuando se trabaja con vacas con cría al pie, vacas y novillas en condición corporal comprometida y/o novillas que teniendo el peso y la edad aún no ciclan (Hafez & Hafez 2002).

La utilización de 400 UI de eCG al momento de retirar el dispositivo de liberación de P4 dio como resultado un aumento en la concentración de P4 en plasma y en las tasas de preñez en vacas amamantadas tratadas durante el anestro posparto (Baruselli *et al.*, 2004).

Jiménez, (2014) señala que los protocolos de sincronización a tiempo fijo que combinan GnRH, P4, y prostaglandinas normalmente alcanzan resultados reproductivos óptimos, en casos de animales comprometidos metabólicamente estos resultados pueden verse alterados. El impacto de factores externos (estrés por calor) o momentos fisiológicos concretos, como pueden ser el posparto temprano, una nutrición deficiente, una baja condición corporal, el anestro o incluso su uso en vacas primíparas, pueden reducir drásticamente las tasas de preñez de estos animales sincronizados. Es en este tipo de situaciones donde la administración de eCG ha cobrado especial importancia a nivel de explotación.

En resumen, el autor destaca que la eCG se utiliza en medicina bovina para mejorar la actividad reproductiva de los animales, ya que debido a sus propiedades se ha comprobado que:

- Mejora la eficiencia reproductiva aplicada en etapas de posparto temprano. En un estudio reciente, administrada a día 6 posparto permitió reducir en 26 los días abiertos (de 130 a 124).
- Aumenta las tasas de ovulación y de preñez de vacas no cíclicas.
- Usada como parte de los protocolos de sincronización para inseminación a tiempo fijo mejora la tasa de concepción en vacas con retraso en la ovulación y mejora el desarrollo y la supervivencia embrionaria.
- Se puede utilizar en protocolos de sincronización para receptoras de embriones mejorando los resultados de la técnica.
- Administrada días después de la ovulación actúa sobre las células luteales grandes, lo cual se traduce en un aumento de los niveles



de progesterona durante la fase luteal tras la inseminación. Esto se traduce en un mayor bienestar embrionario en caso de quedar gestante el animal, pudiendo reducir las pérdidas embrionarias tempranas.

#### **2.4.6. Regulación de la progesterona síntesis y acción en el cuerpo lúteo bovino**

El CL es una glándula endocrina transitoria formada por las células secretoras del folículo tras la ovulación. La función principal de CL es la producción de P4, que regula diversas funciones de la reproducción, juega un papel clave en la regulación de la duración del ciclo estral y en la implantación del blastocisto. El aumento preovulatorio de LH es crucial para la luteinización folicular de células y el mantenimiento del CL, sin embargo, el CL es menos dependiente de la estimulación de la LH durante la fase lútea temprana. Desde el principio, el CL requiere el apoyo luteotrópico para su crecimiento y desarrollo, los otros factores apoyan la función de la LH para mantener el desarrollo y funcionamiento del CL. De hecho, se constató que, las prostaglandinas I<sub>2</sub> y E<sub>2</sub>, la oxitocina, noradrenalina y los factores de crecimiento estimulan de manera eficiente la síntesis de P4 en el CL temprano bovino. (Niswender *et al.*, 2000, Rekawiecki, 2008, citado por Castañeda, 2011).

#### **2.4.7. Regulación molecular de la síntesis de progesterona en el cuerpo lúteo**

El colesterol, que puede obtenerse de la dieta o ser sintetizado y transportado a los ovarios las lipoproteínas (HDL y LDL) es un precursor de la síntesis de esteroides. La P4, entre otras hormonas esteroides es el regulador fisiológico más importante implicado en la vida del CL y la implantación del blastocisto. La esteroidogénesis ovárica está regulada por varios factores que juegan el papel de modulador durante el ciclo estral (Rekawiecki, 2008).

Castañeda (2011) indica que el primer paso de la esteroidogénesis se produce en la mitocondria. La proteína que es la máxima responsable del transporte de colesterol desde el exterior al interior de la membrana mitocondrial es la proteína esteroidogénica reguladora aguda (StAR). Esta es sintetizada como una proteína de 37 kDa como precursor y procesado a 30 kDa como proteína madura después de cruzar la membrana mitocondrial. La interacción de StAR con el exterior de la



membrana mitocondrial resulta en un cambio conformacional de proteínas y crea una StAR's vinculante al colesterol. Además de STAR, periféricas y de los receptores de la benzodiazepina, el ligando natural de este receptor también parece estar involucrado en la regulación de la tasa de transporte de colesterol.

El mismo autor agrega que la membrana interna mitocondrial está relacionada con el citocromo P450scc, que es el primer componente de la enzima compleja que se une a la cadena de colesterol para formar pregnenolona. Posteriormente, se convierte en pregnenolona por 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa / isomerasa (3 $\beta$ -HSD), asociado con el retículo endoplasmático liso. La LH es aceptada como el regulador más importante de la esteroidogénesis luteal, aunque este proceso también está regulado por otros factores luteotropicos. Los receptores de membrana de LH se encuentran principalmente en las células lúteas pequeñas. La unión de LH a su receptor, activa al cAMP-dependiente de la activación de la proteína kinasa A (PKA) y aumenta la producción de P4. La cantidad de receptores para LH varía en el curso del ciclo estral. Es bajo en los primeros y últimos días del ciclo estral y alto a mediados del ciclo. (Niswender, 2002, Cameron & Stouffer, 1982, Rekawiecki, 2008, citado por Castañeda, 2011).

#### **2.4.8. Regresión luteal**

Cunningham, (2003) señala que la regresión del CL es importante en los grandes animales domésticos no gestantes para que puedan entrar de nuevo en un estado potencialmente fértil tan pronto como sea posible. La duración del CL después de la ovulación debe ser la suficiente como para permitir la síntesis y liberación, en una gestación incipiente y en desarrollo, de factores que permitan su mantenimiento y sin embargo, lo bastante corta para que un animal no gestante pueda retornar lo antes posible a un estado fértil. En los grandes animales domésticos, la fase luteínica dura alrededor de 14 días en ausencia de gestación, lo que permite a estos animales completar ciclos a intervalos relativamente frecuentes.

La PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  y la prostaglandina E se han utilizado como tratamiento clínico para inducir luteólisis en perras y leonas para tratar piómetras o para inducir abortos. En animales domésticos de gran tamaño, la regresión del CL se inicia gracias a la



síntesis uterina y posterior liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  alrededor de 14 días después de la ovulación, cuyo paso del útero al ovario se piensa que se produce a través de una transferencia contracorriente a nivel local o mediante transferencia sistémica general. (Cunningham, 2003).

Se cree que el transporte de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , del útero hacia el CL, se hace desde las venas uterinas hacia la arteria ovárica por un mecanismo de contracorriente. La  $\text{PGF}_{2\alpha}$  se libera en una serie de 5 a 8 pulsos, los cuales ocurren a intervalos de 6 a 8 horas y comienzan inmediatamente antes de la regresión luteal. (Convey & Hansel, 1983, Hernández *et al.*, 2008, citado por Castañeda, 2011).

La síntesis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , por el endometrio es máxima al momento de la luteólisis. Este proceso se inicia hacia el día 11-13 en el ovino y hacia el día 16-17 en el bovino, porcinos y equinos. La secreción de esta hormona se realiza en pulsos pequeños cuya intensidad va aumentando a medida que avanza el proceso luteolítico. El efecto de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  sobre el CL es múltiple, sobre las células luteales grandes, la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  estimula la exocitosis de los gránulos citoplasmáticos que contienen grandes cantidades de oxitocina (Ox). Las células luteales sintetizan  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , posiblemente por estímulo de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  endometrial (Mann & Lamming, 2006, Hernández *et al.*, 2008, citado por Castañeda, 2011).

## 2.5. Fisiología de la gestación

### 2.5.1 Gestación

Rivera, (2012) describe que la mayoría de los mamíferos son vivíparos, por lo que el desarrollo embrionario y fetal se lleva a cabo en el útero. Este período de desarrollo uterino se denomina Gestación, en el tienen lugar diferentes cambios de adaptación del tracto reproductivo de la madre para el correspondiente mantenimiento nutricional y crecimiento del feto, así como la sincronización de los distintos mecanismos necesarios para que el feto llegue en buenas condiciones al parto.



Del eyaculado depositado dentro del tracto reproductivo, solamente un pequeño grupo de espermatozoides capacitados alcanzan el ovocito después de pasar a través del “cumulus oophorus” formado principalmente por las células de la granulosa y ácido hialurónico. Este último paso se logra gracias a la motilidad hiperactivada adquirida durante la capacitación y por la acción de la proteína PH-20 localizada en la membrana plasmática del espermatozoide que posee un dominio con actividad hialuronidasa (Velásquez, 2004).

El espermatozoide tiene que atravesar las células del cúmulo ovígeno en desintegración, la corona radiada, las células de la zona pelúcida (ZP), el espacio perivitelino y membrana vitelina para llegar al ooplasma (citoplasma celular). Las células del cúmulo ovígeno y especialmente las de la corona radiada guían al espermatozoide hacia el óvulo. La acrosina producida en el acrosoma del espermatozoide hace una hendidura en la zona pelúcida para que penetre por espacio de 30 minutos (Schroeder, 1999).

Para los espermatozoides depositados en el tracto de la hembra, la ZP es la última barrera que deben atravesar para fertilizar al óvulo. En la penetración de la ZP interviene probablemente un mecanismo mecánico y otro enzimático. En el primero las fuerzas generadas por el movimiento hiperactivo ayudan al paso del espermatozoide a través de la ZP. En el segundo, las enzimas liberadas durante la reacción acrosomal (RA) hacen una abertura en la ZP, a través de la cual el espermatozoides pueden penetrar (Galina & Valencia, 2006).

### **2.5.2. Implantación**

La implantación embrionaria es un proceso complejo, que comprende una serie de etapas que comienzan con la fijación del blastocisto al útero y termina con la formación de la placenta definitiva. Para que la implantación tenga éxito, se requiere de una comunicación entre el embrión y el endometrio a través de una serie de señales moleculares y celulares que conllevan finalmente a una sincronía entre el desarrollo del embrión y una compleja serie de eventos inducidos en el útero por los estrógenos y la P4 (Peña *et al.*, 2007).





Las interacciones embrión-endometrio solo pueden iniciarse cuando el embrión y el endometrio han alcanzado un estado de madurez preciso, el embrión debe estar en la fase de blastocisto y en el endometrio y para que sea receptivo deben haber ocurrido cambios que dependen principalmente de hormonas. (Kennedy *et al.*, 2007).

El proceso de implantación del blastocisto en los mamíferos es muy variable, sobre todo en el grado de invasión del trofoblasto al endometrio. En algunas especies hay poca o ninguna invasión de células trofoblásticas en el endometrio, mientras que en otros la invasión es extensa. En aquellas especies con limitada, o poca invasión, el endometrio sufre pocos cambios en respuesta a la implantación. (Kennedy *et al.*, 2007).

La implantación del embrión en especies rumiantes incluye aéreas carunculares e intercarunculares del endometrio uterino. Primero ocurre una fijación transitoria, mientras el embrión bovino y ovino desarrolla vellosidades en forma de dedos (papilas) que se proyectan en el interior de la luz de las glándulas uterinas. Estas papilas proporcionan un ancla temporal y una estructura absorbente para el embrión mientras progresa una implantación más completa. La pérdida o la reducción de la altura de las microvellosidades de la superficie trofoblástica permiten un contacto cercano de la superficie con las microvellosidades del epitelio uterino. Este último se comprime hacia la superficie trofoblástica inter bloqueándose con las proyecciones citoplásmicas en la superficie del trofoblasto hasta que las microvellosidades del trofoblasto vuelven a desarrollarse, formando una adhesión más compleja (Spencer *et al.*, 2007).

### **2.5.3 Reconocimiento materno embrionario**

Lenis *et al.*, (2014) indica que este proceso constituye en uno de los eventos de mayor importancia en la reproducción, siendo el proceso fisiológico por cual un embrión, mediante señales moleculares, anuncia su presencia a su madre, con el fin que esta no inicie los procesos luteolíticos, que producirían muerte embrionaria temprana. Este proceso está regulado por múltiples señales celulares y endocrinas entre el embrión, el endometrio y el CL.





El embrión debe sintetizar una sustancia que sea capaz de bloquear la luteólisis y de modificar el ambiente endometrial, con el fin de crear condiciones ideales para su adhesión e implantación. Esta molécula en la vaca, es el interferón trofoblástico bovino (bINT- $\tau$ ), llamado así por el sitio de producción, pues se sintetiza en las células trofoblásticas del embrión.

A decir del mismo autor, los mecanismos por los cuales el bINT- $\tau$  favorece el inicio de una gestación, son:

- Disminuye la síntesis del principal factor luteolítico en la hembra  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , producido en las células endometriales epiteliales bovinas (CEEP). Esta disminución en la producción, busca que los procesos luteolíticos no se den, y el CL siga produciendo  $\text{P}_4$ .
- Favorece la síntesis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en las células endometriales estromales bovinas (CEES), también es la responsable de iniciar los mecanismos luteoprotectivos como: la vasodilatación, la angiogénesis, la quiescencia uterina, la receptividad uterina, entre otros.
- Disminuye la transcripción del receptor de oxitocina en las CEEP, lo que reduce la producción de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

El bINT- $\tau$  es la molécula de mayor importancia en la ventana de reconocimiento materno embrionario, ya que debe inhibir los procesos luteolíticos desde antes que estos inicien. Esta se sintetiza y se secreta en altas concentraciones, entre los días 13 y 17 en promedio en la posfertilización; sin embargo, los niveles permanecen altos en promedio hasta el día 27 de la preñez (Lenis *et al.*, 2014).

#### **2.5.4. Alteración en proceso fecundación implantación**

Ayalon, (1978) citado por Hernández (2000), indica que alrededor del 90% de los ovocitos son fertilizados después de la monta o inseminación; sin embargo, una alta proporción de estas gestaciones se pierden. La muerte de embriones antes del reconocimiento materno de la gestación (días 16 a 19) es considerada como muerte embrionaria temprana. La que ocurre entre el reconocimiento materno de la gestación y el momento en que se ha completado la organogénesis (alrededor del



día 42), se denomina muerte embrionaria tardía, y la pérdida de la gestación posterior al día 42 se llama muerte fetal.

La mortalidad embrionaria temprana se da cuando el 25% o más de embriones que pasan por el oviducto hasta llegar al útero no terminan de desarrollarse, esto ocurre durante las primeras tres semanas de la gestación, pero si este evento ocurre antes del día 16-17 es normal que la vaca repita un nuevo ciclo estral (Gordon, 2004).

En animales cíclicos el período de vida del CL es corto, surgiendo posterior a la ovulación (día cero) por la luteinización de las células de la granulosa y la teca interna y desapareciendo alrededor del día 18, producto del efecto luteolítico de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

El embrión produce proteínas acídicas y el endometrio de la vaca preñada produce ácido linoleico que inhibe la síntesis de prostaglandina endometrial; estos niveles de ácido linoleico y araquidónico son más altos en vacas preñadas, lo que influye en el reconocimiento materno, esto ocurre entre el día 16 y 19 de la preñez (Hafez & Hafez 2002).

#### **2.5.5. Suplementación con progesterona después del servicio**

Las bajas concentraciones de P4 en las fases tempranas del ciclo, producen fallas en el mantenimiento de la preñez (Green y col., 2005; Spencer *et al.*, 2007, citado por Gutiérrez, 2008).

Los embriones que se desarrollan en un ambiente con concentraciones adecuadas de P4 producen grandes cantidades de interferón Tau, que es la señal embrionaria para el mantenimiento de la gestación y factor antiluteolítico en las vacas. Esto favorece la implantación y la preñez (Mann y Lamming 2001, Mann *et al.*, 2006, citado por Gutiérrez, 2008).

Según la dosis y el momento de su administración la P4 puede desencadenar o inhibir la ovulación. La P4 constituye un factor indispensable para la regulación de la gestación; para ejercer esta acción necesita que previamente haya actuado la foliculina. Una vez realizada la fecundación inhibe las ovulaciones posteriores (Derivaux, 1982).



Durante la fase luteal temprana, el CL aumenta de tamaño y peso para alcanzar un máximo en el día 7, mientras los niveles de P4 continúan elevándose hasta obtener un valor máximo al 10º día. La producción de P4 por el CL se puede apreciar determinando los niveles plasmáticos que sería indicativo del nivel hormonal al que está sujeto el individuo. En un muestreo realizado en vacas, se reporta un nivel promedio de P4 en plasma de 6,6 ng/ml en la fase luteal del ciclo (McDonal & Pineda 1991).

## **2.6. Principios básicos de ecografía**

### **2.6.1. Ecografía reproductiva**

La ecografía es una técnica inocua que ofrece excelentes ventajas para el diagnóstico precoz de gestación a partir del día 20 pos inseminación; sin embargo, es más práctico y tiene menos falsos negativos cuando se hace en el día 30 pos inseminación. Entre sus ventajas se encuentra la posibilidad de realizar una evaluación más exacta y objetiva del útero y ovarios que mediante la palpación rectal (Hernández, 2009).

#### **2.6.1.1. Fundamento físico**

Su funcionamiento se basa en la emisión y recepción de ondas sonoras de alta frecuencia (no audibles para el oído humano) desde un transductor de ultrasonido (US) o sonda, que se introduce en el recto a través de cuyas paredes se examinan los órganos reproductivos de la vaca. Los impulsos de US son emitidos y dirigidos hacia el órgano evaluado gracias a los movimientos y variación del ángulo del transductor dirigidos por el operador. Estos impulsos viajan a través de los tejidos a una velocidad constante hasta encontrar un órgano en cuya superficie “rebotan” y regresan en forma de eco al transductor (Perea, 2005).

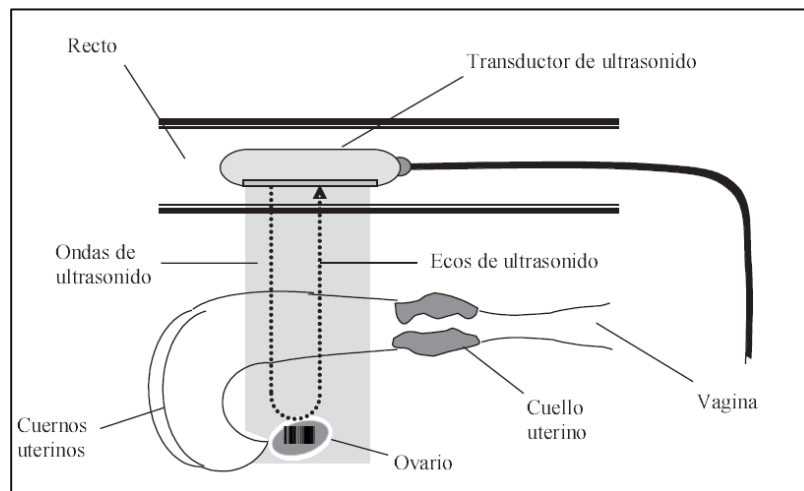
El US se define como aquel sonido que tiene una frecuencia mayor de la que puede ser oída por los seres humanos. Nuestro oído detecta un rango de frecuencias comprendido entre los 15.000 y los 20.000 Hz. Se denomina ultrasonido a cualquier sonido que tiene una frecuencia mayor de 20.000 Hz. (Díaz, 2000 citado por Díaz, 2007).



### 2.6.1.2. Frecuencia

Las frecuencias más comúnmente usadas en la evaluación de los órganos reproductivos de grandes animales como la vaca son 3,5, 5,0 y 7,5 MHz. Las estructuras relativamente pequeñas, como los folículos ováricos localizados más próximos del transductor se pueden estudiar con una frecuencia entre 5,0 y 7,5 MHz. Por el contrario, grandes estructuras localizadas cerca del transductor tales como fetos y úteros de mediana y avanzada gestación, se observan mejor con frecuencias de 3,5 MHz (Perea, 2005).

Cuanto mayor sea la frecuencia menor será la profundidad que alcance el US (mayor atenuación), pero mayor será la resolución o definición de la imagen. Por tanto, los transductores de alta frecuencia se utilizarán para el estudio ecográfico de estructuras superficiales o de animales de pequeño tamaño, mientras que para poder valorar estructuras profundas habrá que emplear frecuencias más bajas, incluso a costa de una disminución de la resolución (Bartrun, 1977, citado por Diez, 1992).



**Figura 4.** Emisión y recepción de ondas de US desde un transductor a órganos reproductivos (Perea, 2005).

### 2.6.2. Formatos de imagen

Díez Bru (1992) manifiesta que existen tres formas distintas de representar la información recogida por el ecógrafo:

#### 2.6.2.1. Modo A (Amplitud)

Se utiliza un solo haz de US y la información recogida es representada en gráficas. El eje vertical representa la distancia y el eje horizontal la amplitud de los ecos. Ofrece poca información y prácticamente no se utiliza.

#### 2.6.2.2. Modo B (Brillo)

Es el formato más utilizado y conocido. Se utilizan múltiples haces emitidos secuencialmente y se obtienen imágenes bidimensionales en movimiento. El brillo del punto es proporcional a la amplitud del eco y la posición al tiempo de recepción. El conjunto de los puntos reproduce un corte anatómico de la región examinada.

#### 2.6.2.3. Modo M (Movimiento)

Se trata de una variante del modo B en la que se utiliza un solo haz de ultrasonido. Se obtienen imágenes unidimensionales en movimiento.

A lo largo de la línea que representa el haz ultrasónico se observarán los ecos como puntos de brillo de distinta intensidad, siendo la distancia también proporcional al



tiempo que tardan en ser recibidos. Esta línea de puntos es presentada en el monitor de forma continua a lo largo del tiempo, avanzando la imagen hacia la derecha.

### 2.6.3. Ecografía tridimensional

Rivera *et al.*, (2005) citado por Tejero, (2008) señala que la ecografía 3D emplea sondas específicas, que realizan el rastreo y la captura de la imagen, de manera rápida, consiguiendo la exploración en los tres planos del espacio (largo, ancho y espesor), a partir de los que se elaboran la imagen tridimensional. Por lo tanto la ecografía 3D está basada en la obtención del volumen fetal (modo V), lo cual supone disponer de más información con respecto a la ecografía tradicional (2D) que reporta imágenes en dos planos.

Además indica que la utilidad y posibles aplicaciones de la 3D, surgen de los diferentes modos de captura y procesamiento de la imagen:

- Modo superficie: es la forma más difundida de la ecografía 3D. Con ella podemos obtener con precisión la imagen y detalles superficiales de la estructura que queramos explorar.
- Modo esqueleto: aunque el modo superficie permite localizar estructuras óseas, este modo está diseñado, específicamente, para una exploración ósea más precisa.
- Modo reconstrucción multiplanar: en el cual se despliegan los tres planos ortogonales bidimensionales en una misma altura del corte (se puede desplazar a lo largo de cualquiera de los ejes para ubicar un punto determinado dentro de un volumen o “navegar” dentro de él).
- Modo de representación 3D en tiempo real o 4D: mostrando imágenes tridimensionales en movimiento.

### 2.6.4. Ecografía en cuatro dimensiones o 4D

La ecografía 4D es la ecografía 3D en movimiento, lo que permite observar, casi en tiempo real, las estructuras en movimiento y por tanto los movimientos fetales. Para



su obtención se emplea la sonda 3D, la diferencia sustancial respecto de la ecografía tridimensional es que reconstruye la imagen en 4D y a tiempo real.

La denominación de la técnica obedece a que hay cuatro dimensiones involucradas: tres espaciales (el volumen) y una temporal (el momento en que se obtuvo el volumen). Las cuatro dimensiones que muestra la ecografía son ancho, largo, espesor y tiempo. Permite la proyección de hasta 25 imágenes por segundo en planos tridimensionales. Mientras la tecnología 3D consiste en la reconstrucción de la imagen a través de la computadora de manera estática, el ecógrafo 4D permite observar las imágenes 3D en movimiento (Freire, 2004 citado por Tejero, 2008).

#### **2.6.5. Efecto doppler**

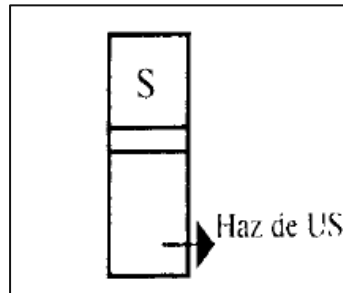
Se basa en el cambio de frecuencia que se registra en cualquier onda cuando es reflejada (o también producida por un emisor) por un componente en movimiento. En el caso de los ecocardiógrafos, el principal componente en movimiento a observar es la sangre circulante. Y es su microprocesador el que calcula en unos nanosegundos la velocidad del flujo de la sangre, a partir de la medida de las diferencias entre la frecuencia de retorno del eco y la frecuencia emitida por el transductor, así como el ángulo conformado por ambos haces, asumiendo como constante la velocidad del US en la sangre estática. (Freire 2004, citado por Tejero, 2008).

#### **2.6.6. Tipos principales de transductores**

##### **2.6.6.1. Transductores lineales**

Tienen los cristales alineados a lo largo del transductor. La estimulación secuencial de grupos de cristales produce la imagen en forma de rectángulo y el ancho de la imagen se corresponde con el largo de la fila de cristales. El transductor es generalmente orientado en sentido longitudinal. De esta manera, por ejemplo, se observa el cuerpo del útero en sentido sagital y los cuernos uterinos en un sentido transversal. Los transductores lineales son los más usados en reproducción porque el recto posee una gran superficie plana especial para trabajar con estos transductores (Bo, G., & Caccia 2000).

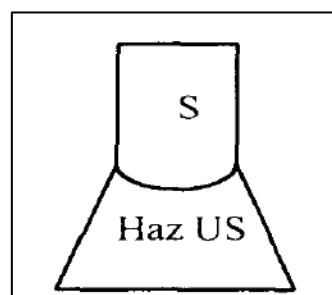
En la vaca es recomendable utilizar sondas lineales de 5,0 MHz, aunque los ovarios, útero y gestaciones hasta los 40 días se ven mejor con las sondas de 7,5 MHz,. Se aconseja trabajar con sondas de una sola frecuencia, que poseen mejor calidad de imágenes que las multifrecuencias (Loeza, 2012).



**Figura 5.** Diseño de una sonda lineal (Diez, 1992).

#### **2.6.6.2. Transductores convexos**

Bo, G., & Caccia (2000) señalan que estos transductores son los más modernos. Los cristales en este caso están dispuestos de la misma manera que en los lineales, pero la superficie es convexa y la imagen tiene forma de abanico. Debido a que su principio es el mismo, la mayoría de las máquinas modernas pueden ser usadas con transductores lineales o convexos. En general, los transductores convexos son de gran aplicación en medicina general de pequeños y grandes animales. También se utilizan para la aspiración de folículos y la obtención de ovocitos para ser fertilizados in vitro.

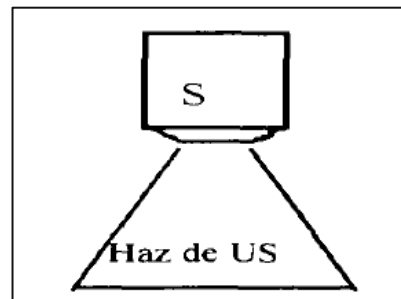


**Figura 6.** Diseño de una sonda convexa (Diez, 1992).



### 2.6.6.3. Transductores sectoriales

Producen una imagen triangular con el vértice hacia arriba. La ventaja de estos es que necesitan una superficie de contacto pequeña por ejemplo el espacio intercostal (Bo y Caccia, 2000).



**Figura 7.** Diseño de una sonda sectorial (Diez, 1992)

### 2.6.7. Patrones ecográficos

Diez Bru, (1992) Hace referencia que los patrones ecográficos en los modos B y M, las imágenes ecográficas están formadas por puntos de diferente brillo. Cuanto más intenso sea el eco reflejado por una determinada estructura, más brillante aparecerá en la imagen. A esta intensidad de brillo se le conoce con el nombre de ecogenicidad utilizándose para describir las imágenes ecográficas los siguientes términos:

#### 2.6.7.1. Hiperecogénico, hiperecoico

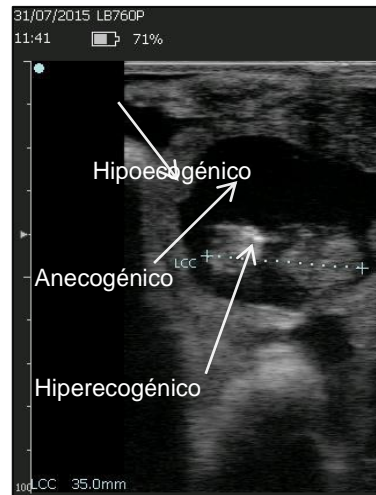
Se produce una gran reflexión de US (escasa o nula transmisión). Los puntos en el monitor aparecen con una intensidad de brillo máxima, es decir, blancos gas, hueso (Bartrun, 1977, citado por Diez Bru, 1992).

#### 2.6.7.2. Hipoecogénico, hipoecoico

Genera pocos ecos y/o de baja intensidad. Cuando en el interior de la estructura normal existen interfases de menor ecogenicidad que el parénquima circundante. Ecográficamente es una imagen poco reflectante, color gris oscuro, típico de las tendinitis, desestructuración, inhomogeneidad. Típica, también, del músculo normal, hipoecoico respecto del tendón. (Diaz, 2000, citado por Diaz, 2007).

### 2.6.7.3. Anecogénico, anecoico

Ausencia de ecos por no producirse reflexión de US (transmisión completa). Los puntos aparecerán de color negro, por ejemplo; los líquidos (Herring, 1985, citado por Diez Bru, 1992).



**Figura 8.** Lenguaje ecográfico (El autor)

### 2.6.8. Ecografía del aparato reproductor de la hembra

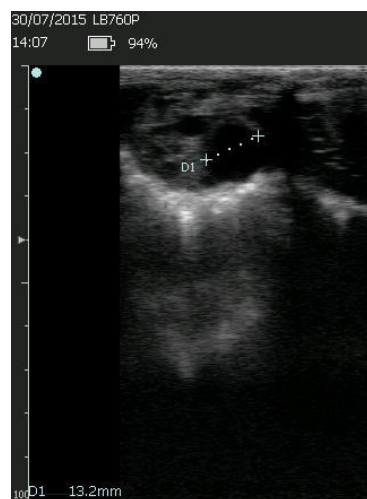
El útero se examina en toda su dimensión con cortes transversales, longitudinales y oblicuos. Si los cuernos están vacíos es relativamente fácil su identificación mediante la visualización en la pantalla de redondeles de 2 a 4 cm de diámetro, pero si la vaca está en celo, entonces la luz uterina se observa con exudados, apreciándose una imagen de estrella oscura (anecogénica) en toda la longitud del cuerno. En la ultrasonografía del útero es fundamental el análisis de los cambios morfológicos durante el ciclo estral de la vaca. El incremento de volumen es evidenciado por el aumento de vasodilatación y edema y por la acumulación de líquido intrauterino, en el cérvix y vagina. El espesor del útero comienza a aumentar 3 a 4 días antes de la ovulación y disminuye después de esta hasta los 3 a 4 días del ciclo, luego permanece sin cambios durante el diestro (Quintela, 2006).

Los folículos ováricos aparecerán en la imagen como estructuras circulares de color negro y que normalmente no hacen preeminencia sobre la superficie del ovario (Quíntelas, 2006, citador por López, 2011). Los Folículos son visibles como

cavidades negras o anecogénicas, con un borde muy fino, y a veces de contorno irregular por la compresión de otras estructuras del ovario. Su tamaño va creciendo durante el ciclo estral de la vaca a razón de 1.5 a 2.5 mm por día, llegando a folículo dominante a 15-20 mm en el momento previo a la ovulación (Bellenda, 2002, citado por López, 2011).

El CL se muestra evidente en imágenes ecográficas alrededor de los 2 - 3 días posteriores a la ovulación. Esta estructura es hipoeecogénica en la vaca, algo oscura y redondeada con 1,5 a 3,5 cm de tamaño en correspondencia con los estadios del CL hemorrágico, CL maduro o CL en regresión (Loeza, 2012).

En investigaciones realizadas, entre el 30 y 80 % de los CL presentan cavidad central de 2 a 20 mm de diámetro con zona anecogénica oscura, probablemente conformada por el líquido folicular del folículo que originó al CL, y rodeada por tejido luteal; en estos casos, los CL son fisiológicos. La concentración de P4 y el porcentaje de gestación no muestran diferencias significativas en vacas con CL con cavidad en comparación con los que tienen CL compacto (Loeza, 2012).



**Figura 9.** Ultrasonografía de folículos (El autor)

#### **2.6.9. Diagnóstico de gestación**

Bellenda, (2002) se refiere al diagnóstico precoz de gestación en la vaca, que se puede realizar en forma práctica y rutinaria a partir del día 25 post-servicio, aunque

en forma experimental se puede hacer mucho antes. Este diagnóstico debe ser sencillo y rápido, para no generar mucha manipulación sobre los cuernos, que en algunos casos puede ser una causa más de la propia pérdida embrionaria precoz estimada entre el 5 y 15%.

Se dice que el examen ecográfico transrectal entre los días 26 y 33, tiene una sensibilidad del 97% y una especificidad del 87%. En esta etapa, el embrión mide aproximadamente 1 cm, y se encuentra en uno de los cortes más amplios del cuerno gestante, dentro de un líquido oscuro y límpido, pudiendo identificar los latidos cardíacos. Pero, después del día 40, ya se puede diferenciar la cabeza, grupa, miembros y cordón umbilical (Bellenda, 2002).



**Figura 10.** Diagnóstico de preñez 40 días (El autor)

### CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Materiales

#### 3.1.1. Materiales biológicos

15 Vacas Brahman, 14 Brown Swiss, pajuelas de 0,25 ml.

#### 3.1.2. Materiales químicos

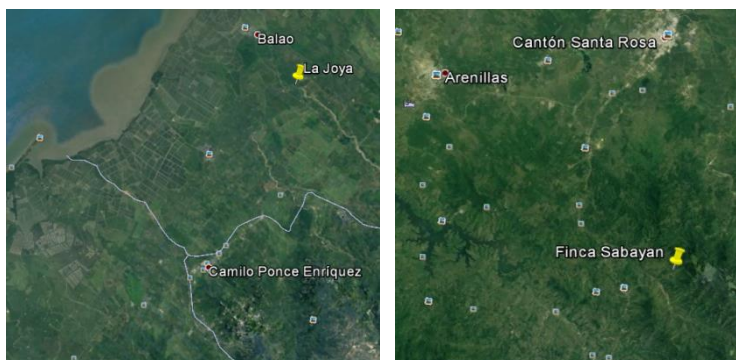
Progesterona (progesterona Mad-4<sup>®</sup>), dispositivo intravaginal (CIDR<sup>®</sup>), benzoato de estradiol (grafoleon<sup>®</sup>), prostaglandina (Ciclase<sup>®</sup>), cipionato de estradiol (ECP<sup>®</sup>), gonadotropina coriónica equina (Folligon<sup>®</sup>).

#### 3.1.3. Materiales físicos

Termo de inseminación, pistola de inseminación, catéter, guantes ginecológicos, pipetas, jeringas, botas, overol, centrifuga, ecógrafo ECM Imago, tubos vacutainer, agujas vacutainer, eppendorf, jeringuillas, tanque de nitrógeno líquido.

### 3.2. Ubicación

Esta investigación se realizó en dos haciendas: la Joya, que se encuentra ubicada en el cantón Balao de la provincia del Guayas a una altura de 70 msnm con clima tropical húmedo con una temperatura de 25 a 31°C; y la hacienda Sabayan en la parroquia Torata del cantón Santa Rosa, Provincia de El Oro, lugar que tiene un clima tropical similar a la hacienda anterior, con una temperatura promedio de 22 °C a 31 °C que se encuentra a una altura de 55 msnm.



**Figura 11.** Ubicación de fincas donde se realizó la investigación (Google earth, 2016)



### 3.3. Características de la unidad de análisis

Este estudio se inició con 29 vacas, 15 Brahman en la hacienda La joya y 14 Brown Swiss, en la hacienda Sabayan, todas las vacas fueron seleccionadas con una condición corporal de  $\geq 3$  en la escala 1 al 5 (Ferguson *et al.*, 1994), clínicamente sanas, alimentadas con una dieta basal que consistió en pasto saboya 97% sales minerales 3%. Fueron evaluadas ginecológicamente por ultrasonido antes del proyecto para descartar preñez y detectar enfermedades reproductivas.

En el grupo de 75 mg de bovino Brown Swiss durante la investigación, se excluyó una vaca por no presentar CL a la observación con US.

**Tabla 1.** Distribución de vacas en los grupos experimentales

La Joya		Sabayan	
Testigo	n=5	Testigo	n=5
75 mg	n=5	75 mg	n=4
100 mg	n=5	100 mg	n=5
vacas	n=15	vacas	n=14

### 3.4. Metodología

#### 3.4.1. Protocolo de IATF

Luego de haber seleccionado las vacas para el estudio, se procedió a realizar la IATF a todas las vacas con el mismo protocolo a los tres grupos experimentales.

**Tabla 2.** Protocolo de inseminación

Día	Actividad
0	CIDR 1mg y benzoato de estradiol 2 mg
7	Extracción CIDR, eCG 400 UI, prostaglandina 500 mcg y ECP 1 mg
9	IATF



### 3.4.2. Aplicación de progesterona exógena

En una manga apropiada para el manejo de los animales, se adicionó P4 inyectable 75 mg y 100 mg a dos grupos experimentales, 72 horas después a haber iniciado la IATF, al tercer grupo no se adicionó P4 exógena por ser el grupo control.

La progesterona que se utilizó es una hormona natural de larga acción, con una concentración de 25 mg por mililitro, alcanza su nivel plasmático máximo a las 4 horas, manteniendo niveles superiores a 1 ng/ml por cinco días.

**Tabla 3.** Protocolo de inseminación con adición de P4 exógena

Día	Actividad
0	CIDR 1mg y Benzoato de estradiol 2 mg
7	Extracción CIDR, eCG 400 UI, prostaglandina 500 mcg y ECP 1 mg
9	IATF
11	Adición de P4 exógena (75 y 100 mg)

### 3.4.3. Análisis de P4 sérica

De acuerdo a un cronograma que se estableció para el muestreo en los tres grupos experimentales (Tabla 4), se procedió a extraer sangre de la vena coccígea a todas las vacas para establecer la concentración plasmática. Luego de haber tomado la muestra, en las mismas fincas donde se efectuó el estudio en un lugar apropiado las muestras fueron centrifugadas a razón de 2000 revoluciones por minuto durante 20 minutos para extraer el plasma y luego verter a tubos ependorf para someterlos a congelación hasta su análisis.

**Tabla 4.** Cronograma de muestreo sanguíneo

Tratamientos								
Día 3 PI	Día 4 PI	Día 5 PI	Día 6 PI	Día 8 PI	Día 10 PI	Día 12 PI	Día 14 PI	Día 16 PI



#### 3.4.4. Análisis morfológico del CL

Para desarrollar esta actividad también se desarrolló un cronograma para determinar el crecimiento del CL de un día respecto a otro. Este procedimiento se realizó por ultrasonografía transrectal con el ecógrafo Imago ECM, con sonda lineal 7,5 Mz, el tamaño que se determinó se expresa en milímetros.

**Tabla 5.** Cronograma de medición de CL

Tratamientos						
Día	Día	Día	Día	Día	Día	Día
6	8	10	11	12	14	16

#### 3.4.5. Porcentaje de Preñez

Para evaluar este parámetro se realizó diagnóstico de preñez con el mismo ecógrafo que se registró crecimiento de CL, este diagnóstico se realizó a los 60 días post inseminación.

Para determinar el porcentaje de vacas preñadas se utilizó la fórmula empleada por Hincapié *et al* (2008).

$$VP = \frac{\text{Total de vacas preñadas}}{\text{Total de vacas en el hato}} \times 100$$

### 3.5. Variables

#### 3.5.1. Variables independientes

Las variables a considerar son: la adición de progesterona inyectable a los grupos experimentales y la no adición al grupo testigo.

**Tabla 6.** Variables independientes

Variable	Indicador	Escala	
Progesterona	ng/ml	Grupo 1	0 mg
		Grupo 2	75 mg
		Grupo 3	100 mg





### 3.5.2. Variables dependientes

En este caso las variables dependientes son: morfología del CL, nivel de Progesterona plasmática y porcentaje de preñez.

### 3.6. Diseño experimental y pruebas estadísticas

Para realizar esta investigación se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con dos tratamientos con aplicación de progesterona exógena a los 3 días post inseminación artificial y otro sin progesterona exógena post inseminación.

Se aplicó pruebas de normalidad y homogeneidad de las varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk, Levene Kruskal Wallis. Se analizó mediante la prueba ANOVA para determinar los niveles de P4 sérica y morfología del CL y la prueba chi cuadrado para determinar el diagnóstico de preñez.



## CAPITULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Niveles de progesterona sérica

Se realizó la prueba ANOVA con el objetivo de verificar si existía significancia entre los tratamientos pero el análisis demostró que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ).

Los datos obtenidos de la P4 plasmática durante los días de medición fueron analizados su normalidad y la igualdad de las varianzas (Anexo 2, 3, 4 y 5) por tratamiento y raza.

Al evaluar el efecto de la P4 exógena aplicada luego de la IA, se determinó que no existió diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos (Anexos 6, 7) sobre los niveles de P4 sérico en ningún día de medición, de tal manera que los valores plasmáticos de P4 en la vacas sin la aplicación de P4 exógena o con 75 o 100 mg de P4 respectivamente, tuvieron un comportamiento similar.

Por otro lado, al evaluar el efecto de la P4 exógena por razas se determinó valores más altos ( $P < 0,01$ ) en la raza Brown Swiss en los días 3, 4, 14 y 16 de medición, en comparación con la raza Brahman (Anexos 8 y 9).

Los valores promedios totales de P4 en los diferentes tratamientos y razas así como sus combinaciones se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Media y error estándar de la media ( $X \pm EEM$ ) de los niveles promedios de P4 plasmática (ng/ml), por tratamientos, razas y sus combinaciones, durante los días de medición.

Días de evaluación	Raza	Tratamientos			TOTAL
		Control	75 mg P4	100 mg P4	
Día 3 **	Brahman	$0,8 \pm 0,27$	$0,7 \pm 0,14$	$0,8 \pm 0,11$	$0,8 \pm 0,10^A$
	Brown Swiss	$3,4 \pm 1,45$	$5,4 \pm 3,07$	$4,0 \pm 1,19$	$4,2 \pm 1,03^B$
	TOTAL	$2,1 \pm 0,81^a$	$2,8 \pm 1,5^a$	$2,4 \pm 0,78^a$	
Día 4 **	Brahman	$1,6 \pm 0,22$	$1,5 \pm 0,18$	$1,5 \pm 0,17$	$1,5 \pm 0,10^A$
	Brown Swiss	$5,0 \pm 1,47$	$1,8 \pm 0,91$	$8,2 \pm 2,578$	$5,2 \pm 1,23^B$
	TOTAL	$3,3 \pm 0,90^a$	$1,6 \pm 0,39^a$	$4,9 \pm 1,64^a$	
Día 5 **	Brahman	$3,0 \pm 0,23$	$2,8 \pm 0,47$	$2,5 \pm 0,27$	$2,8 \pm 0,19^A$
	Brown Swiss	$4,8 \pm 1,75$	$4,6 \pm 2,11$	$8,6 \pm 3,25$	$6,1 \pm 1,43^A$
	TOTAL	$3,9 \pm 0,89^a$	$3,6 \pm 0,95^a$	$5,6 \pm 1,84^a$	
Día 6 **	Brahman	$4,3 \pm 0,41$	$3,9 \pm 0,50$	$4,2 \pm 0,29$	$4,1 \pm 0,22^A$
	Brown Swiss	$4,1 \pm 2,03$	$4,8 \pm 2,49$	$7,0 \pm 3,18$	$5,3 \pm 1,45^A$
	TOTAL	$4,2 \pm 0,98^a$	$4,3 \pm 1,06^a$	$5,6 \pm 1,58^a$	
Día 8 **	Brahman	$5,2 \pm 0,25$	$4,7 \pm 0,61$	$4,7 \pm 0,56$	$4,8 \pm 0,27^A$
	Brown Swiss	$6,1 \pm 2,12$	$3,7 \pm 1,83$	$8,6 \pm 2,89$	$6,3 \pm 1,39^A$
	TOTAL	$5,6 \pm 1,02^a$	$4,3 \pm 0,83^a$	$6,6 \pm 1,53^a$	
Día 10 *	Brahman	$5,8 \pm 0,49$	$5,2 \pm 0,87$	$4,5 \pm 0,64$	$5,2 \pm 0,39^A$
	Brown Swiss	$7,3 \pm 1,45$	$4,3 \pm 2,44$	$6,7 \pm 1,36$	$6,2 \pm 0,97^A$
	TOTAL	$6,5 \pm 0,76^a$	$4,8 \pm 1,11^a$	$5,6 \pm 0,8^a$	
Día 12 **	Brahman	$6,3 \pm 0,63$	$5,2 \pm 1,18$	$4,3 \pm 0,94$	$5,3 \pm 0,55^A$
	Brown Swiss	$8,8 \pm 1,88$	$5,3 \pm 2,96$	$12,5 \pm 3,43$	$9,1 \pm 1,70^A$
	TOTAL	$7,6 \pm 1,02^a$	$5,2 \pm 1,36^a$	$8,4 \pm 2,16^a$	
Día 14 *	Brahman	$6,3 \pm 0,72$	$5,8 \pm 1,43$	$4,1 \pm 1,03$	$5,4 \pm 0,64^A$
	Brown Swiss	$8,7 \pm 2,08$	$5,4 \pm 2,46$	$12,9 \pm 2,89$	$9,2 \pm 1,58^B$
	TOTAL	$7,5 \pm 1,11^a$	$5,6 \pm 1,26^a$	$8,5 \pm 2,06^a$	
Día 16 *	Brahman	$5,6 \pm 0,82$	$5,7 \pm 1,70$	$4,3 \pm 1,30$	$5,2 \pm 0,73^A$
	Brown Swiss	$10,9 \pm 1,56$	$8,4 \pm 2,75$	$14,5 \pm 2,99$	$11,5 \pm 1,49^B$
	TOTAL	$8,3 \pm 1,22^a$	$6,9 \pm 1,52^a$	$9,4 \pm 2,29^a$	

\* Datos que cumplieron una distribución normal

\*\* Datos que No cumplieron una distribución normal

<sup>a,b</sup> Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas en los valores totales de Tratamientos y por día, según ANOVA y Kruskal Wallis ( $P < 0,05$ )

<sup>A,B</sup> Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en los valores totales por Raza y por día, según ANOVA y U de Mann Whitney ( $P < 0,05$ )



## 4.2. Morfología del cuerpo lúteo

En los tres tratamientos evaluados, se midió el crecimiento del CL de acuerdo a un cronograma establecido. Esta medición se realizó en forma longitudinal y transversal al CL y luego se promedió.

Los datos obtenidos del tamaño del CL durante los días de medición fueron analizados su normalidad y la igualdad de las varianzas (Anexo 11, 12, 13 y 14) por tratamiento y raza.

Al evaluar el efecto de la P4 exógena aplicada luego de la IA, se determinó que no existió diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos (Anexos 14 y 15) sobre el tamaño del CL en ningún día de medición, de tal manera que el tamaño del CL en las vacas sin la aplicación de P4 exógena o con 75 o 100 mg de P4 respectivamente, tuvieron un comportamiento similar.

Al analizar el efecto de la P4 exógena por razas se determinó valores más altos ( $P < 0,001$ ) en la raza Brown Swiss en todos los días de medición, en comparación con la raza Brahman (Anexos 16 y 17).

Los valores promedios totales de P4 en los diferentes tratamientos y razas así como sus combinaciones se muestran en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Media y error estándar de la media ( $X \pm EEM$ ) del tamaño de CL (mm), por tratamientos, razas y sus combinaciones, durante los días de medición.

Días de medición	Raza	TRATAMIENTO			TOTAL
		Control	75 mg P4	100 mg P4	
Día 6 *	Brahman	15,4 $\pm$ 0,55	16,8 $\pm$ 0,37	15,7 $\pm$ 0,65	16,0 $\pm$ 0,32 <sup>A</sup>
	Brown Swiss	16,7 $\pm$ 0,60	16,7 $\pm$ 1,07	19,1 $\pm$ 0,20	17,6 $\pm$ 0,47 <sup>B</sup>
	TOTAL	16,1 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>	16,7 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	17,4 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	
Día 8 *	Brahman	16,1 $\pm$ 0,52	18,4 $\pm$ 0,42	17,8 $\pm$ 0,68	17,4 $\pm$ 0,39 <sup>A</sup>
	Brown Swiss	19,3 $\pm$ 0,63	17,8 $\pm$ 0,96	20,8 $\pm$ 0,77	19,4 $\pm$ 0,53 <sup>B</sup>
	TOTAL	17,7 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	18,1 $\pm$ 0,46 <sup>a</sup>	19,3 $\pm$ 0,70 <sup>a</sup>	
Día 10 **	Brahman	13,7 $\pm$ 3,44	19,1 $\pm$ 0,32	19,0 $\pm$ 0,84	17,3 $\pm$ 1,29 <sup>A</sup>
	Brown Swiss	21,1 $\pm$ 0,92	20,3 $\pm$ 1,60	21,3 $\pm$ 1,01	20,9 $\pm$ 0,62 <sup>B</sup>
	TOTAL	17,4 $\pm$ 2,08 <sup>a</sup>	19,6 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	20,2 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	
Día 11 *	Brahman	17,2 $\pm$ 0,89	19,6 $\pm$ 0,80	19,5 $\pm$ 0,89	18,8 $\pm$ 0,55 <sup>A</sup>



	Brown Swiss	22,0 ± 0,61	22,8 ± 1,65	22,3 ± 1,21	22,3 ± 0,62 <sup>B</sup>
	TOTAL	19,6 ± 0,96 <sup>a</sup>	21,0 ± 0,98 <sup>a</sup>	20,9 ± 0,84 <sup>a</sup>	
<b>Día 12 **</b>	Brahman	16,3 ± 0,91	18,6 ± 0,69	17,6 ± 0,63	17,5 0,48 <sup>A</sup>
	Brown Swiss	21,7 ± 1,70	21,6 ± 2,12	21,9 ± 0,98	21,8 0,85 <sup>B</sup>
	TOTAL	19,0 1,28 <sup>a</sup>	20,0 1,07 <sup>a</sup>	19,8 0,90 <sup>a</sup>	
<b>Día 14 *</b>	Brahman	15,3 ± 0,77	17,6 ± 0,71	16,8 ± 0,53	16,6 ± 0,44 <sup>A</sup>
	Brown Swiss	21,1 ± 0,89	20,9 ± 1,82	21,1 ± 1,06	21,0 ± 0,66 <sup>B</sup>
	TOTAL	18,2 ± 1,11 <sup>a</sup>	19,0 ± 1,01 <sup>a</sup>	18,9 ± 0,91 <sup>a</sup>	
<b>Día 16 *</b>	Brahman	14,3 ± 0,78	16,7 ± 0,91	16,0 ± 0,43	15,7 ± 0,47 <sup>A</sup>
	Brown Swiss	21,8 ± 1,06	21,3 ± 1,84	21,1 ± 0,78	21,4 ± 0,65 <sup>B</sup>
	TOTAL	18,0 1,38 <sup>a</sup>	18,7 ± 1,20 <sup>a</sup>	18,6 ± 0,94 <sup>a</sup>	

\* Datos que cumplieron una distribución normal

\*\* Datos que No cumplieron una distribución normal

<sup>a,b</sup> Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas en los valores totales de Tratamientos y por día, según ANOVA y Kruskal Wallis ( $P < 0,05$ )

<sup>A,B</sup> Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en los valores totales por Raza y por día, según ANOVA y U de Mann Whitney ( $P < 0,05$ )

### 4. 3. Diagnóstico de preñez

El diagnóstico de preñez se realizó por ecografía, 60 días después de haber realizado la IATF.

Al realizar el análisis del porcentaje de preñez de vacas aplicadas P4 exógena post-IA, se determinó que no existió diferencias estadísticas ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos (Anexo 19) y entre razas (Anexo 20), determinando que el porcentaje de vacas preñadas con y sin P4 exógena son similares.

Los porcentajes de preñez se muestran en las Tablas 9 y 10.

**Tabla 9.** Porcentaje de preñez de vacas aplicadas P4 exógena post-IA por tratamiento

Estado Fisiológico Post-IA	Tratamientos			Total (n = 29)
	Control (n = 10)	75 mg P4 (n = 9)	100 mg P4 (n = 10)	
Preñada, % (n)	40,0 <sup>a</sup> (4)	44,4 <sup>a</sup> (4)	50,0 <sup>a</sup> (5)	44,8 (13)
No preñada, % (n)	60,0 <sup>a</sup> (6)	55,6 <sup>a</sup> (5)	50,0 <sup>a</sup> (5)	55,2 (16)

<sup>a,b</sup> Letras diferentes en cada fila entre tratamientos muestran diferencias significativas, según Chi- cuadrado ( $P < 0,05$ )

**Tabla 10.** Porcentaje de preñez de vacas aplicadas P4 exógena post-IA por raza.

Estado Fisiológico Post- IA	Razas		Total (n = 29)
	Brahman (n = 15)	Brown Suis (n = 14)	
Preñada, % (n)	46,77 <sup>a</sup> (7)	42,9 <sup>a</sup> (6)	44,8 (13)
No preñada, % (n)	53,3 <sup>a</sup> (8)	57,1 <sup>a</sup> (8)	55,2 (16)

<sup>a,b</sup> Letras diferentes en cada fila entre tratamientos muestran diferencias significativas, según Chi- cuadrado (P < 0,05)



## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

En los últimos años se han realizado numerosos trabajos de investigación para mejorar la preñez después de la IA. Uno de los enfoques abordados fue intentar aumentar los niveles de P4 durante el diestro obteniendo de esta forma resultados bastante variables (Machado *et al.*, 2008).

Así mismo Sartori *et al.*, (2016), indican que durante la última década, los investigadores han estudiado las diferencias en la fisiología reproductiva entre las razas *Bos taurus* y *Bos indicus*. En General, no hay diferencia en el número de ondas foliculares durante el ciclo estral, sin embargo *Bos indicus* tienen mayor número de folículos antrales, insulina circulante e IGF1 que *Bos Taurus*.

Por su lado, Mann y Lamming (2001), confirmaron que la adición de P4 podría ser razón de la mejora de la fertilidad al adelantarse el embrión a la secreción de PGF<sub>2α</sub> por parte del endometrio. Sin embargo también se ha visto que el aumento de P4 por inyección en el diestro si bien produce las modificaciones en el embrión mencionadas, también tiene un efecto debido al adelanto de la luteólisis en 2 a 3 días (O'Hara *et al.*, 2013). Esto coincide con varios de los trabajos que se aplicaron dosis entre los 100 y 300 mg de P4 durante más de un día (Woody *et al.*, 1967).

Pugliesi *et al.*, (2014), realizaron una investigación donde administraron 150 y 300 mg de P4 en los días 2 y 3 después de la ovulación a 6-7 vacas / grupo. Las concentraciones plasmáticas de P4 en este estudio fueron mayores ( $P<0,05$ ) desde el día 2.5 al día 5.5 en los grupos. De esta forma se demostró que la suplementación de P4 en el día 2 y 3 después de la ovulación aumentó las concentraciones de P4 durante  $\geq 3$  días.

En un estudio realizado por Garret *et al.*, (1988) se aplicó 100 mg de P4 en los días 1, 2, 3, y 4 post inseminación y se evidenció un aumento de las concentraciones plasmáticas de P4 en los días 2 a 5. Los resultados obtenidos por este autor son similares a los que se obtuvo en este estudio, donde había diferencia significativa en los días 3 al 5 y también en los días 14 al 16 como indica el Anexo 2.



Estos resultados también coinciden con los obtenidos por Pugliesi *et al.*, (2014), donde el autor indica que el tratamiento con P4 exógena no tiene efecto sobre el CL.

En otra investigación realizado por Sartori *et al.*, (2016), se determinó que *Bos taurus* tiene mayor diámetro en el folículo ovulatorio y CL, además que existe menor concentración de estradiol y de P4 circulante que *Bos indicus*. Los autores indican que hay dos principales factores relacionados con menores concentraciones circulantes de estradiol y P4 en *Bos Taurus* en comparación con *Bos indicus*, estas son; aumento del metabolismo hepático de las hormonas esteroideas y menor producción por folículos y CL.

Sartori *et al.*, (2016), analizaron las diferencias metabólicas y endocrinas entre bovinos *Bos taurus* y *Bos indicus*, se observó diferencias en el recuento folicular antral entre las vacas Nelore y Holstein, así como del diámetro máximo del folículo ovulatorio que fue de  $13,4 \pm 0,3$  frente a  $15,7 \pm 0,3$  mm, así como el volumen del CL  $4,9 \pm 0,5$  frente a  $7,6 \pm 0,5$   $72 \text{ cm}^3$  fueron menores en *Bos indicus* que en *Bos taurus*. Las concentraciones de P4 circulante en el día 7 fue  $2,8 \pm 0,2$  frente a  $2,0 \pm 0,1$  ng/ml y en el día 14 fue  $4,6 \pm 0,4$  frente a  $4,1 \pm 0,2$  ng/ml en *bos taurus* e *indicus* respectivamente.

Este mismo estudio señala que el diámetro del folículo mayor alcanzó  $7.3 \pm 0.4$  en vacas *indicus* y  $9.0 \pm 0.5$  mm en vacas *taurus*. Se concluyó que el tiempo de emergencia de la onda folicular después del tratamiento con benzoato de estradiol + P4 era dependiente de la dosis para ambas razas. Además, los efectos de la raza observados en este estudio corroboran resultados previos y sugieren una tasa de eliminación más lenta de  $E_2$  en vacas *Bos indicus*.

Los resultados obtenidos en esta investigación coincide también con Carvalho *et al.*, (2008) quienes determinaron que no hubo diferencias detectables en la concentración de P4 sérica, estas concentraciones fueron similares en el grupo de





novillas tratadas con P4 frente a las novillas que no recibieron aplicación de P4 exógena.

Es importante destacar que el tamaño del folículo ovulatorio se asocia con CL, por tanto la ovulación de los folículos más pequeños resulta en CL pequeño con capacidad reducida para concentraciones de P4 (Sartori *et al.*, 2016).

En otro estudio realizado por Álvarez *et al.*, (2000), se evaluó las características ováricas y endocrinas durante un ciclo estral en Angus, Brahman y Senepol en un ambiente subtropical, los resultados de este análisis fue que hubo diferencias en la función ovárica en las razas que intervinieron. Es decir las dos razas adaptadas a los trópicos tienen mayor tamaño folicular que las vacas Angus no adaptadas. Seguramente provocado por el estrés de las Angus al no estar adaptadas a este clima, afectando parámetros reproductivos como; celos silenciosos, muertes embrionarias, menores tasas de concepción etc., (Mujica, 2005).

En conclusión, vacas Brahman y Senepol tenían mayor número de folículos y mayor diámetro de CL que Angus ( *Bos taurus*). Estas diferencias ováricas pueden ser debido a cambios en el patrón de secreción de FSH, insulina, IGF-I y GH pero no LH, IGF-II o IGFBP-2 o -3. (Alvarez *et al.*, 2000).

En el diagnóstico de preñez se obtuvo numéricamente mejor porcentaje en el grupo que se administró 100 mg de P4 exógena, sin embargo este resultado no representa diferencia significativa, por tanto coincide con los resultados obtenidos por Larson *et al.*, (2007), donde realiza una investigación en vacas lecheras que fueron suplementadas con una fuente externa de P4, mediante la colocación de un dispositivo intravaginal entre los días 3 y 10 después del servicio, la tasa de preñez fue superior en las vacas tratadas al ser comparadas con el grupo control 48% y 35 %, respectivamente.

Así mismo, en otro estudio realizado por Macias & Vera (2014), se insertaron CIDR por 10 días, después de 7 días de haber inseminado, determinaron que hay una



relación en el grupo que se aplicó P4 exógena con respecto al grupo control, a los 30 días de preñez ( $P= 0.053$ ).

Arndt Wendy, (2009) realizaron una investigación donde describieron que el suplemento de progesterona no tuvo ningún efecto ( $P = 0,35$ ) en la pérdida de embrión durante la preñez temprana en las vacas lecheras y novillas suplementadas con dispositivos CIDR en los días 4 y 18 después de la inseminación. La tasa de preñez inicial fue del 34% en el momento de la primera ecografía (5 semanas después de la IA). En la semana 13 después de la inseminación la tasa global de preñez había disminuido a 31%.

Existen algunos trabajos realizados que han adicionado P4 exógena después de haber realizado un protocolo de IATF muchos coinciden que no hay diferencia significativa. Sin embargo si presentan mejores tasas de preñez sobre otros grupos analizados.

En otro estudio, se evaluó las características ováricas y endocrinas durante un ciclo estral en Angus, Brahman y Senepol en un ambiente subtropical, los resultados de este análisis fue que hubo diferencias en la función ovárica en las razas que intervinieron. Es decir las dos razas adaptadas a los trópicos tienen mayor tamaño folicular que las vacas Angus no adaptadas.

La fisiología reproductiva de las vacas mestizas difiere en algunos aspectos de la fisiología de las razas Europeas, por ejemplo se han reportado diferencias en las características del área del tejido luteal (Pathiraja *et al.*, 1986), diámetro del folículo dominante (Barros *et al.*, 1995; Figueiredo *et al.*, 1997), duración del estro (Medrano *et al.*, 1996) y momento de la ovulación (Pinheiro *et al.*, 1998) tomado de Noris *et al.*, (2006).

Es importante destacar que, a pesar que las estructuras ováricas como folículos y CL en *Bos indicus* son más pequeñas que en *Bos taurus*, las concentraciones de hormonas esteroides y metabólicas no son necesariamente más altas en el ganado europeo. De hecho, algunos estudios han demostrado que a pesar de tener folículos más pequeños y CL más pequeño, las vacas *Bos indicus* tienen mayor



concentraciones circulantes de estradiol, P4, insulina e IGF-I en comparación con vacas *Bos taurus* (Sartori *et al.*, 2010).

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



## 6.1. Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio se puede realizar las siguientes conclusiones:

- La administración de progesterona exógena no afecta la funcionalidad y morfología del CL.
- La aplicación de P4 exógena tiene influencia numérica en los resultados de preñez obtenidos en los tratamientos.
- En el grupo que se administró 100 mg de P4 existe mejor porcentaje de preñez sobre los otros grupos.
- A pesar de este resultado obtenido, no existe diferencia significativa con los tratamientos analizados.

## 6.2. Recomendaciones

- Reducir el número de muestreos sanguíneos y sesiones de US para no causar estrés a las vacas que se están investigando, debido a las manipulaciones que se necesita realizar para ejecutar estas actividades, debido a que por estas causas pudiera interferir en los resultados.
- Considerando que las vacas fueron manejadas y distribuidas en similares condiciones en cada grupo respecto a su edad, condición corporal, etc. Se podría también distribuir las en función del tamaño del CL lo más homogéneo posible entre los grupos a investigar.
- Continuar con este tipo de investigaciones con un número mayor de vacas, con la finalidad de obtener una muestra más representativa.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



- Adams, H. (2001). Veterinary pharmacology and therapeutics. Iowa, Estados Unidos: Iowa State University Press.
- Alarcón, M., & Galina, Carlos.. (2009). Manual de prácticas de reproducción animal. Diciembre 30, 2015, de Universidad Nacional Autónoma de México Sitio web: [http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/60\\_Reproduccion\\_Animal.pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/60_Reproduccion_Animal.pdf)
- Alvarez, P. Spicer, L. Chase, C. Payton, E. Hamilton, T. Stewart, R. Hammond, A. Olson, T, and Wetteman, R. (2000). Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. J. Anim. Sci. 2000. 78:1291–1302
- Arndt, W. J., Holle, A., Bauer, M., Kirsch, J., Schimek, D., Odde, K., Vonnahme, K. (2009). Effect of post-insemination progesterone supplementation on pregnancy rate in dairy cows. Octubre 29, 2014. Sitio web:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2757707/>.
- Baruselli, PS., Reis, EL., Marques, MO., Nasser, LF., Bó, GA. (2004). The use of treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. Anim Reprod Sci 82-83, 479-486.
- Bazer, FW. (1992). Mediators of maternal recognition of pregnancy in mammals Proc Soc Exp Boil and Med 199, 373-384
- Bazer, FW., and NL, First (1983). Pregnancy and parturition JAnim Sci57, 425-460.
- Bearden, J., Fuquay, W. (1982). Reproducción animal aplicada. Trad. H.S. López. 3 ed. Cuauhtémoc, México. El Manual Moderno, S.A de C.V. 358 p.
- Becaluba, F. (2006). Métodos de sincronización de celos en bovinos. Diciembre 20, 2015, de Infogranjas.com.ar Sitio web: <http://www.infogranjas.com.ar/inseminacion-artificial/metodos-de-sincronizacion-de-celos-en-bovinos>
- Bellenda, O. (2002). El ultrasonido o ecografía aplicados en la reproducción animal. Julio 20, 2015, de Ecografiavet Sitio web: [http://www.ecografiavet.com/pdf/Ecografia\\_en\\_Vacas\\_y\\_Yeguas.pdf](http://www.ecografiavet.com/pdf/Ecografia_en_Vacas_y_Yeguas.pdf)
- Bó, GA., Cutaia, L. (s.f). Estado del arte en IATF: factores que afectan sus resultados. Instituto de Reproducción Animal Córdoba (IRAC). Universidad Católica de Córdoba. Agencia Córdoba Ciencia. Syntex SA.



- Bo, G., & Caccia, M. (2000). Ultrasonografía reproductiva en el ganado bovino. Agosto 10, 2015, de Sitio argentino de producción animal Sitio web: [http://www.produccionanimal.com.ar/informacion\\_tecnica/ecografia\\_ultrasonido/39ultrasonografia\\_reproductiva\\_en\\_bovino.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/ecografia_ultrasonido/39ultrasonografia_reproductiva_en_bovino.pdf)
- Bousfield, GR., Perry, WM., and DN Ward (1994). Gonadotropins chemistry and biosynthesis In: The physiology of reproduction Knobil, E., and J, Neil (ED 30), 1749-1792.
- Burke, J. M., De la Sota, RL., Risco, CA., Staples, CR., Schmitt, EJ-P., Thatcher, WW. (1996). Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. J Dairy Sci 8, 1385-1394.
- Carvalho, J. Carvalho, N. Reis, N. Nichi, M. Souza, A. Baruselli, P. (2008). Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in Bos indicus, Bos indicus \_ Bos taurus, and Bos taurus heifers. Theriogenology 69 167–175.
- Caraviello, D. Z., Weigel, KA., Fricke, PM., Wiltbank, MC., Florent, MJ., & Cook, N. B. (2006). Survey of management practices related to the reproductive performance of dairy cattle on large commercial farms in the United States. J. Dairy Sci 89, 4723-4735.
- Castañeda, L. (2011). Fisiología de la reproducción bovina: Desde la monta hasta la implantación embrionaria. Tesis de grado, médico veterinario. Noviembre 22, 2015, de Universidad de la Salle Sitio web: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/5640/T14.09%20C275f.pdf?sequence=1>
- Cunningham, J. (2003). Fisiología Veterinaria: 3ª ed. España. Elsevier p. 421.
- Del Valle Díaz Thaís (2008). Dinámica folicular ovárica durante el ciclo estral en vacas doble propósito. En C. G. Stagnaro, & N. M. Belloso (Edits.), Desarrollo Sostenible de Ganadería Doble Propósito (págs. 546-554). Trujillo, Venezuela: Ediciones Astro Data S.A. Obtenido de [http://www.avpa.ula.ve/libros\\_nacionales.html](http://www.avpa.ula.ve/libros_nacionales.html).
- Derivaux, J. (1982). Reproducción de los animales domésticos. Trad. J. Gómez. 2ed. España, Editorial Acribia. 486 p.
- Díaz, N., Garrido, R., Castellano, J. (Agosto 07, 2007). Metodología y técnicas. Ecografía: principios físicos, ecógrafos y lenguaje ecográfico. Elsevier, 33, p.362-369. Mayo 15, 2015, De Semergen Base de datos.



- Diez, BN., (Julio, 1992). Principios básicos de la ecografía. Facultad de veterinaria de Madrid, 12, p. 138-147. Mayo 25, 2015, De Clínica veterinaria de pequeños animales. Base de datos.
- Diskin, M., Austin EJ., Roche, JF. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endocrinol*;23:211-228.
- Ferguson, J., Galligan, D., & Thomsen, N. (1994). Principal descriptors of body condition score in holstein cows. *Elsevier*, 77, :2695-2703. 2016, enero 12, De Pubmed Base de datos. Febrero 7
- Fink, G. (1988). Gonadotropin secretion and its control. In: *The physiology of reproduction* ( Edited by Knobil, E and J., Neil. 32, 1349-1377.
- Galina, C., Valencia, J. (2006). Reproducción de animales domésticos: México, Segunda Edicion, Limusa. p. 128, 130, 135, 136..
- Garrett, J. E., Geisert, R. D., Zavy, M. T., & Morgan, G. L. (1988). Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 84(2), 437-446.
- Gazquez, A., & Rodríguez, A. (2004). Tratado de histología veterinaria. España: Masson.
- Geary, T. W., Whittier, J. C., Hallford, D. M., & MacNeil, M. D. (2001). Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and Co-synch protocols. *J Anim Sci* 79, 1-4.
- Ginther, OJ., Bergfelt, DR., Kulick, LJ., Kot, K. (2000). Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle stimulating hormone and the follicles. *Biol Reprod*; 62:920–927.
- Gordon, I. (2004). Tecnología de la reproducción de los animales de granja. Trad. David N.M. España, Editorial ACRIBIA, S.A. 429 p.
- Gumen, A. J., Guenther, M., & Wiltbank, M. C., (2003). Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*, 86, 3184-3194.
- Gutiérrez, J. C. (2008). Manual de ganadería doble propósito: Hormonas de la reproducción bovina. Enero 5, 2016, de Asociación venezolana de producción animal Sitio web: [http://www.avpa.ula.ve/libro\\_desarrollosost/pdf/capitulo\\_42.pdf](http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_42.pdf)



- Gutiérrez, J. C., Palomares, R., Sandoval, J., De Ondíz, A., Portillo, G., & Soto, E. (2005, junio 13). Uso del protocolo ovsynch en el control del anestro postparto en vacas mestizas de doble propósito. FCV-LUZ, XV, 7. 2016, enero 10, De <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/28284/2/art1.pdf> Base de datos.
- Gutiérrez, J. C., González, R., Palomares, R., Soto, E. (2006). Fertilidad de vacas mestizas de doble propósito tratadas con un progestágeno intravaginal más eCG en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. III Jornadas Nacionales de Investigación en Reproducción Animal (JONIRA). Marzo, 6 al 9. Barquisimeto-Venezuela.
- Gutiérrez, J.C., Palomares, R., González, R., Portillo, G., Montero, M., Rubio, J., Hernández, H., Soto, E. (2008). Shortening Anoestrous Interval In Crossbred Dual Purpose Cows Using Progestagen Intravaginal Sponges plus eCG and PGF2 $\alpha$ . *ReprodDomAnim* (In Press).
- Hafez, E. S. (1996). Reproducción e inseminación artificial. Trad. R. Palacios. 6 ed. Interamericana. Carolina del Sur, E.E.U.U. 542 p.
- Hafez, E., & Hafez, B. (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. México: McGraw-Hill Interamericana.
- Hernández, C. J. (2000). "Causas y Tratamiento de la infertilidad en la vaca lechera". Octubre 29, 2014. Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. Sitio web: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/departamentos/rumiantes/bovinotecnia/BtRgZooG010.pdf>.
- Hernández, J. (2009). Manual de prácticas de reproducción animal. Septiembre 08, 2015, de Universidad Nacional Autónoma de México Sitio web: [http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/60\\_Reproduccion\\_Animal.pdf](http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/Manuales/60_Reproduccion_Animal.pdf)
- Hincapié, J., Campo, E., Blanco, G. (2008). Trastornos reproductivos en la hembra bovina. Tegucigalpa, Honduras: Litocom.
- Illera, M. (1994). Reproducción de los animales domésticos. Madrid: Aedos.
- Intervet, (2007). Compendium de reproducción animal. Sinervia Uruguay.





- Jiménez, A. (2014). Revisión de la utilidad de la Gonadotropina coriónica equina en la reproducción bovina. Noviembre 15, 2015, de Reprodaction Sitio web: <http://www.reprodaction.com/es/Trials-y-Articulos/2014.03.01-Revision-de-la-utilidad-de-la-Gonadotropina-corionica-equina-en-la-reproduccion-bovina>
- Kastelic, J. P., Ambrose, J. D., (2004). Effects of modified OvSynch protocols, including presynchronization, and/or post-breeding pLH or hCG, on pregnancy rates in dairy cows. Anim Reprod Sci. 82, 334
- Kennedy, T., Gillio-Meina, C. & Han Phang, S. (2007). Prostaglandins and the initiation of blastocyst implantation and decidualization: Reproduction; 134: 635 – 643
- Larson, S. F., Butler, W. R., & Currie, W. B. (2007). Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. Anim Reprod Sci 102:172-179.
- Lenis Sanín Yasser, Tamayo Arango Lynda, Rodríguez Osorio Nelida, Duque Muñoz Leonardo, Naranjo Nicholls Jose, Carrillo González Diego, Duque Quintero Mónica, Maldonado Estrada Juan, Tarazona Morales Ariel. (2014). Reproducción de la vaca. Manual didáctico sobre la reproducción, gestación, lactancia y bienestar de la vaca. Medellín, Colombia: Fondo Editorial Remington.
- Loeza, D. (2012). Manual de diagnóstico de gestación en hembras bovinos a través de palpación transrectal y ultrasonografía. Julio 20, 2015, de Universidad Veracruzana Sitio web: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/30873/1/LoezaDeloya.pdf>
- López, R. (2011). Ultrasonografía aplicada a la reproducción bovina. Mayo 15, 2015, de Universidad de cuenca Sitio web: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3067/1/mv184.pdf>
- Macías, J. Vera, A. (Febrero 28, 2014). Evaluación de progesterona intravaginal post inseminación artificial para reducir la muerte embrionaria en vacas. Espamciencia, vol 5, pp. 25-30. Noviembre 05, 2015, De Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López Base de datos.
- Mc Donald, L., & Pineda, M. (1991). Endocrinología veterinaria y reproducción. 4a. de., México, Interamericana Mc Graw-Hill: 318-320 y 394



- Machado, R., Bergamaschi, M. A, Barbosa, R.T., de Oliveira, C.A., Binelli, M. (2008). Ovarian function in Nelore (*Bos Taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. *Theriogenology* 69, 798–804.
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (2001). Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121, 175–180.
- Macmillan, K. L., & Henderson, H. (1984). Analyses of the variation in the interval from an injection of prostaglandin Fea to estrus as a method of studying patterns of follicle development during diestrous in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 6:245-254. 66 66.
- Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C. A., Mattos, R., Lopes, F., Thatcher, W. W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 84, 1646-1659.
- Mujika, I. (2005). El estrés calórico, efecto en las vacas lecheras. Noviembre 25, 2016. Sitio web: [http://www.produccion-animal.com.ar/clima\\_y\\_ambientacion/76-estrescalorico.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/clima_y_ambientacion/76-estrescalorico.pdf)
- Mufeed, A., & Wadie, L. (2007). Effect of progesterone (P4) intravaginal device (CIDR) to reduce embryonic loss and to synchronize return to oestrus of previously timed inseminated lactating dairy cows. Noviembre 25, 2014, de Animal reproduction science Sitio web: [http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320\(07\)00239-4/abstract](http://www.animalreproductionscience.com/article/S0378-4320(07)00239-4/abstract)
- Noris, R. Tiburcio, L. Díaz, T. Chacín, F. (2006). Ondas foliculares ováricas en vacas Brahman y Mestizas (*Bos indicus* x *Bos taurus*), ubicadas en los llanos centrales venezolanos. Noviembre 25, 2016. Sitio web: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-72692006000300008](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692006000300008)
- O'Hara, L., Forde, N., Carter, F., Rizos, D., Maillio, V., Ealy, A., Kelly, A., Rodriguez, P., Isaka, N., Evans, A., & Lonergan, P. (2013). Paradoxical effect of supplementary progesterone between Day 3 and Day 7 on corpus luteum function and conceptus development in cattle. *Reprod Fertil Dev*. doi:10.1071/RD12370.
- Odde, K. (1990). A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J Anim Sci* 68:817-830.



- Pascual, I. (sf). Reproducción animal. Noviembre 24, 2016, de Sitio argentino de producción animal Sitio web: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/inseminacion\\_artificial/186\\_reprod\\_compendio.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/186_reprod_compendio.pdf)
- Peña, J. M., Gongora, A., Estrada, J. (2007). Factores de crecimiento en el desarrollo folicular, embrionario temprano e implantación en la producción de embriones bovinos: Rev. MVZ Córdoba 12(1): p. 942-954.
- Perea, F. (2005). Manual de ganadería doble propósito: Ecografía reproductiva. Octubre 03, 2015, de Asociación venezolana de producción animal Sitio web: [http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manual-ganaderia/seccion8/articulo1-s8.pdf](http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion8/articulo1-s8.pdf)
- Peters, KE., Bergfeld, EG., Cupp, AS., Kojima, EN., Mariscal, V., Sanchez, T., Wehrman, ME., Grotian, HE., Hamernik, DL., Kitok, RJ., and JE, Kinder (1994). Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea but is not required to maintain CL function in heifers Biol Reprod 51, 1248-1254.
- Pugliesi, G., Oliveria, M. L., Scolari, S. C., Lopes, E., Pinaffi, F. V., Miagawa, B. T., & Binelli, M. (2014). Corpus Luteum Development and Function after Supplementation of Long-Acting Progesterone During the Early Luteal Phase in Beef Cattle. Reproduction in domestic animals, 49(1), 85-91.
- Pursley, JR., Fricke, PM., Garverick, HA., Kesler, DJ., Ottobre, JS., Stevenson, J. S., Wiltbank, MC. (2001). Regional Research Project. Improved fertility in noncycling lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. Midwest Branch ADSA 2001 Meeting, Des Moines, IA; 63.
- Pursley, JR., Mee, MO., Wiltbank, MC. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. Theriogenology 44, 915-923.
- Quintela, L. (2006). Ecografía y reproducción en la vaca. Santiago de Compostela: Servizo de publicacións e intercambio científico.
- Ramírez, L., (2006) <sup>a</sup>. El hipotálamo de los mamíferos domésticos. Universidad de Los Andes – Trujillo. Venezuela. Mundo Pecuario, Vol. II, N° 1, 16-17.
- Ramírez, L. (2006) <sup>b</sup>. Hormonas hipofisarias del bovino Universidad de Los Andes-Trujillo. Venezuela. Mundo Pecuario, Vol. II, N° 1, 18-19.



- Rekawiecki, R., Kowalik, M., Slonina, D., Kotwica, J. (2008). Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum: Journal Of Physiology and Pharmacology, 59, Suppl 9, 75-89.
- Rippe, CA. (2009). Ciclo Estral. The Dairy Cattle Reproduction Council does not support one product over another and any mention herein is meant as an example not an endorsement. Servicios Técnicos, ABS Global Inc.
- Rutllant, J., Lopez-Gatius, F., Camon, J., López Plana, C., and M, Lopez (1997). A scanning electron microscope study of the structural component of the bovine vaginal fluid at oestrus J. Vet. Med A44, 237-241.
- Rivera, M. (2012). Gestación. Julio 22, 2015, de Manual de reproducción bovina Sitio web: [http://reproduccionbovina-mgrg.blogspot.com/p/gestacion\\_5.html](http://reproduccionbovina-mgrg.blogspot.com/p/gestacion_5.html)
- Sartori, R. Gimenes, LU. Monteiro, J. Melo, LF. Baruselli, PS. Bastos, MR. (2016). Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction, *Theriogenology*, doi: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.016.
- Sartori, R. Ricieri, B. Costa, M.(2010). Physiological Bases for Understanding Estrous Cycle Differences Between *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Acta Scientiae Veterinariae*. 38 (Supl 2): s277-s315. Noviembre 25, 2016. Sitio web: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.955.45&rep=rep1&type=pdf>
- Schroeder, W., Hans. (1999). Fisiopatología Reproductiva de la Vaca: Librería Medica CELSUS. P. 235-238
- Sosa, H. J, (2000). Efecto de los implantes de progestágeno post-servicio de inseminación artificial en la fertilidad de vacas repetidoras. Tesis Ing. Agr. Escuela Agrícola Panamericana, Tegucigalpa, Honduras. 18 p.
- Soto, E. (2001). Mejora reproductiva mediante el control hormonal de la actividad ovárica postparto en vacas mestizas de doble propósito. En: Reproducción Bovina. C González-Stagnaro (ed). Fundación Girarz. Maracaibo-Venezuela 20:325-331.
- Spencer, T., Johnson, G., Bazer Fuller, W., Burghardt, R & Palmarini, M. (2007). Pregnancy recognition and conceptus implantation in domestic ruminants: roles of progesterone, interferons and endogenous retroviruses. *Reproduction, Fertility and Development*, 19, 65–78



- Stevenson, JS., Pursley, JR., Garverick, HA., Fricke, PM., Kesler, DJ., Ottobre, JS., Wiltbank, MC. (2006). Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during Ovsynch. *J Dairy Sci* 89, 2567-2578.
- Tejero, J. (Enero, 2008). "Diagnóstico ultraprecoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona". Universidad de León, Facultad de veterinaria. León. p. 34-35. Mayo 20, 2015, De Sitio argentino de producción animal. Base de datos.
- Tucker, HA (1994). Lactation and its hormonal control in: The physiology of reproduction Knobil, E. and J. Neil (Eds) 57, 1065-1098.
- Vasconcelos, LM., Silcox, RW., Rosa, GJ., Pursley, JR., Wiltbank, MC. (1999). Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52, 1067-1078.
- Velásquez, P., José, G. (2004). Estudio del reconocimiento y la unión entre gametos en la especie bovina (*Bos taurus*). Papel del ácido siálico en la interacción espermatozoide-zona pelúcida: Tesis Doctoral. p. 53-60
- Veneranda, G., Filippi, L., Racca, D., Cutaia, L., Bó, G. (2008). Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and GnRH or estradiol benzoate and eCG *Reprod, Fertil Dev* 20, 91.
- Vizcarra, JA., Wettemann, RP., Braden, TD., Turzillo, AM and Tm, Nett (1997). Effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulse frequency on serum and pituitary concentrations of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone, GnRH receptors, and messenger ribonucleic acid for gonadotropin subunits in cows *endocrinology* 138: 594-601.
- Williams, G., Gasai, O., Guzman, G., & Stanko, R. (1996, abril). Mechanisms regulating suckling mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science*, 42:289-297.
- Wiltbank, MC. (1994). Cell types and hormonal mechanisms associated with Mid-cycle corpus luteum function. *J Anim Sci* 72, 1873-1883.
- Woody, C.O., First, N. L., Pope, A. L. (1967): Effect of exogenous progesterone on estrous cycle length. *J Anim Sci* 26, 139-141.



Zheng, J., Fricke, PM., Reynolds, LP., and DA, Redmer(1994). Evaluation of growth proliferation, and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle Biol Repro 51, 623-632.



## ANEXOS

**Anexo 1.** Niveles de progesterona (P4) expresada en ng/ml, durante los días de muestreo.

Grupos	Raza	Día 3 PI	Día 4 PI	Día 5 PI	Día 6 PI	Día 8 PI	Día 10 PI	Día 12 PI	Día 14 PI	Día 16 PI
control	Brahman	0,45	1,23	2,76	3,49	5,72	6,82	7,2	7,87	6,36
	Brahman	0,55	1,36	3,25	3,82	5,42	6,19	7,28	6,16	5,08
	Brahman	1,84	2,29	2,64	3,96	4,26	4,9	5,87	6,22	5,19
	Brahman	0,35	1,99	3,74	5,84	5,14	4,4	4,05	3,8	3,15
	Brahman	0,98	1,22	2,45	4,14	5,29	6,68	7,24	7,58	8,12
	B. swiss	3,33	5,35	4,86	2,25	6,4	8,01	7,5	8,97	10,83
	B. swiss	8,61	9,75	10,47	11,73	12,17	10,44	15,02	12,59	16,72
	B. swiss	3,55	4,63	6,4	4,68	8,94	10,19	11,01	13,32	10,64
	B. swiss	0,77	0,5	1,36	0,69	1,08	4,41	5,54	2,01	8,19
	B. swiss	0,56	4,96	1,01	1,15	1,69	3,44	5	6,47	8,23
75 mg	Brahman	0,25	1,86	3,78	3,99	5,56	7,24	7,27	8,12	8,62
	Brahman	0,92	1,35	2,25	4,42	5,94	6,2	7,58	8,28	9,42
	Brahman	0,82	0,92	1,72	2,73	2,55	2,14	1,72	1,72	1,16
	Brahman	1,05	1,86	2,34	2,91	4,18	5,84	6,44	7,85	7,12
	Brahman	0,64	1,34	4,12	5,46	5,17	4,65	3,15	2,92	2,11
	B. swiss	1,25	0,23	3,76	1,94	0,85	0,74	0,91	2,24	11,88
	B. swiss	6,61	0,33	10,37	11,55	6,45	10,82	12,86	10,89	11,25
	B. swiss	0,25	2,88	0,23	0,31	0,31	0,4	0,22	0,36	0,21
	B. swiss	13,64	3,83	4,05	5,33	7,3	5,29	7,02	8,03	10,31
100 mg	B. swiss	0,45	1,22	2,82	3,73	4,8	5,16	4,66	3,98	2,86
	Brahman	0,95	2,12	3,47	4,35	3,92	3,29	2,1	1,62	1,68
	Brahman	1,02	1,42	2,1	3,64	3,14	2,9	2,32	2,22	2,1
	Brahman	0,59	1,71	2,14	3,98	5,16	4,9	5,26	5,58	7,22
	Brahman	0,84	1,22	2,1	5,22	6,44	6,41	7,12	7,14	7,71
	B. swiss	1,4	8,29	4,87	2,47	4,16	7,05	9,57	12,21	15,16
	B. swiss	7,11	16,73	20,43	18,33	18,12	7,2	20,06	18,76	25,36
	B. swiss	4,14	5,78	6,68	3,81	6,74	3,87	9,39	7,58	9,61
	B. swiss	1,3	0,97	1,31	0,91	2,09	4,18	2,72	5,71	8,5
	B. swiss	6,15	9,21	9,6	9,45	11,84	11,41	20,51	20,16	13,71



**Anexo 2.** Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición de la P4 plasmática por tratamiento.

Pruebas de normalidad				
Días	Grupos	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Día 3	Control	,713	10	,001
	75 mg P4	,626	9	,000
	100 mg P4	,750	10	,004
Día 4	Control	,847	10	,054
	75 mg P4	,935	9	,534
	100 mg P4	,776	10	,007
Día 5	Control	,852	10	,062
	75 mg P4	,811	9	,027
	100 mg P4	,717	10	,001
Día 6	Control	,839	10	,043
	75 mg P4	,875	9	,139
	100 mg P4	,723	10	,002
Día 8	Control	,928	10	,431
	75 mg P4	,915	9	,355
	100 mg P4	,796	10	,013
Día 10	Control	,922	10	,378
	75 mg P4	,949	9	,678
	100 mg P4	,887	10	,157
Día 12	Control	,839	10	,043
	75 mg P4	,922	9	,407
	100 mg P4	,818	10	,024
Día 14	Control	,948	10	,643
	75 mg P4	,877	9	,147
	100 mg P4	,864	10	,084
Día 16	Control	,922	10	,372
	75 mg P4	,869	9	,119
	100 mg P4	,896	10	,197

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors





**Anexo 3.** Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición de la P4 plasmática por raza.

Pruebas de normalidad				
Días	Raza	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Día 3	Brahman	0,895	15	0,08
	Brown			
	Swiss	0,878	14	0,055
Día 4	Brahman	0,919	15	0,184
	Brown			
	Swiss	0,897	14	0,103
Día 5	Brahman	0,933	15	0,303
	Brown			
	Swiss	0,866	14	0,037
Día 6	Brahman	0,943	15	0,417
	Brown			
	Swiss	0,837	14	0,015
Día 8	Brahman	0,941	15	0,399
	Brown			
	Swiss	0,916	14	0,195
Día 10	Brahman	0,941	15	0,399
	Brown			
	Swiss	0,939	14	0,405
Día 12	Brahman	0,864	15	0,028
	Brown			
	Swiss	0,95	14	0,555
Día 14	Brahman	0,885	15	0,056
	Brown			
	Swiss	0,962	14	0,755
Día 16	Brahman	0,919	15	0,183
	Brown			
	Swiss	0,901	14	0,116
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.				
a. Corrección de significación de Lilliefors				



**Anexo 4.** Test de Homogeneidad de las varianzas de Levene durante los días de medición de la P4 plasmática por tratamiento.

Prueba de homogeneidad de varianzas				
Días	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Día 3	1,307	2	26	,288
Día 4	6,516	2	26	,005
Día 5	1,827	2	26	,181
Día 6	,712	2	26	,500
Día 8	,865	2	26	,433
Día 10	,453	2	26	,641
Día 12	2,672	2	26	,088
Día 14	2,557	2	26	,097
Día 16	1,489	2	26	,244

**Anexo 5.** Test de Homogeneidad de la varianzas de Levene durante los días de medición de la P4 plasmática por raza.

Prueba de homogeneidad de varianzas por razas				
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Día 3	22,042	1	27	0
Día 4	15,427	1	27	0,001
Día 5	13,175	1	27	0,001
Día 6	19,239	1	27	0
Día 8	13,799	1	27	0,001
Día 10	12,928	1	27	0,001
Día 12	9,856	1	27	0,004
Día 14	7,231	1	27	0,012
Día 16	1,197	1	27	0,284



**Anexo 6.** ANOVA para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados entre los tratamientos.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día 10	Entre grupos	14,306	2	7,153	0,939	0,404
	Dentro de grupos	198,125	26	7,620		
	Total	212,431	28			
Día 14	Entre grupos	40,614	2	20,307	0,873	0,430
	Dentro de grupos	605,075	26	23,272		
	Total	645,689	28			
Día 16	Entre grupos	29,456	2	14,728	0,498	0,613
	Dentro de grupos	769,078	26	29,580		
	Total	798,534	28			

**Anexo 7.** Prueba de Kruskal Wallis para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal entre los tratamientos.

	Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup>					
	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 8	Día 12
Chi-cuadrado	0,801	2,759	0,111	0,157	0,501	1,679
gl	2	2	2	2	2	2
Sig. asintótica	0,67	0,252	0,946	0,924	0,779	0,432
a. Prueba de Kruskal Wallis						
b. Variable de agrupación: TRATAMIENTO						



**Anexo 8.** Prueba ANOVA para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados por razas.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día 3	Entre grupos	84,239	1	84,239	11,632	0,002
	Dentro de grupos	195,532	27	7,242		
	Total	279,770	28			
Día 4	Entre grupos	99,405	1	99,405	9,658	0,004
	Dentro de grupos	277,889	27	10,292		
	Total	377,295	28			
Día 8	Entre grupos	15,219	1	15,219	1,125	0,298
	Dentro de grupos	365,100	27	13,522		
	Total	380,319	28			
Día 10	Entre grupos	8,215	1	8,215	1,086	0,307
	Dentro de grupos	204,216	27	7,564		
	Total	212,431	28			
Día 14	Entre grupos	106,318	1	106,318	5,322	0,029
	Dentro de grupos	539,371	27	19,977		
	Total	645,689	28			
Día 16	Entre grupos	285,415	1	285,415	15,018	0,001
	Dentro de grupos	513,119	27	19,004		
	Total	798,534	28			

**Anexo 9.** Prueba U de Mann Whitney para determinación del nivel de P4 plasmática en ng/ml, durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal por razas.

	Estadísticos de prueba <sup>a</sup>		
	Día 5	Día 6	Día 12
U de Mann-Whitney	63,000	90,000	66,000
W de Wilcoxon	183,000	195,000	186,000
Z	-1,833	-,655	-1,702
Sig. asintótica (bilateral)	0,067	0,513	0,089
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	0,070 <sup>b</sup>	0,533 <sup>b</sup>	0,093 <sup>b</sup>




---

a. Variable de agrupación: RAZA

b. No corregido para empates.

---

**Anexo 10.** Morfología del CL expresado en mm, durante los días que se realizó medición con US.

Grupos	Razas	Crecimiento CL (mm)						
		Día 6	Día 8	Día 10	Día 11	Día 12	Día 14	Día 16
Control	Brahman	16,12	17,9	18,14	20,46	18,94	17,6	16,75
	Brahman	17,2	15,78	16	15,72	14,62	14,34	13,22
	Brahman	14,52	15,35	15,72	16,68	15,86	15,12	14,1
	Brahman	15,05	16,68	17,56	15,52	14,24	13,18	12,32
	Brahman	14,24	15	16,77	17,50	17,8	16,43	15,3
	B. Swiss	18,65	20,75	23,35	23,85	27,65	23,55	21,7
	B. Swiss	15,5	20,7	20,95	21,45	19,25	19,9	20,85
	B. Swiss	15,9	17,7	18,1	20,85	18	18,55	18,95
	B. Swiss	15,95	18,2	20,45	20,9	23	22,5	21,8
	B. Swiss	17,6	19,05	22,65	23,1	20,7	21	25,45
75 mg	Brahman	17	17,8	18,33	20,98	20,2	19,9	19,42
	Brahman	18,05	19,95	20,12	21,46	20,34	18,28	17,85
	Brahman	15,85	18,46	18,86	19,49	18,06	17,1	16,18
	Brahman	16,44	17,52	18,66	16,92	16,84	15,62	14
	Brahman	16,52	18,28	19,44	19,02	17,8	17,14	16,12
	B. Swiss	14,8	16,65	18,25	20,05	17,75	19	19,2
	B. Swiss	17,25	18,1	20,2	24,7	25,25	24,95	23,8
	B. Swiss	15,22	16,1	17,9	20	18,1	16,8	17,2
	B. Swiss	19,45	20,4	24,85	26,5	25,3	22,65	24,95
100 mg	Brahman	16,2	17,2	18,45	19,78	18,1	17,48	16,92
	Brahman	14,82	16,36	17	17,4	16,62	16,08	15,3
	Brahman	17,96	18,22	18,72	17,62	15,74	15	14,74
	Brahman	15,45	20,2	22,14	21,9	19,2	17,56	16,7
	Brahman	14,2	16,8	18,8	20,88	18,44	17,7	16,45
	B. Swiss	18,95	20,75	18,45	19,15	20,75	20	20,2
	B. Swiss	19,45	21,2	24,5	23	22,95	22,1	21,4
	B. Swiss	18,5	19,15	20,75	20,05	19,65	18,75	18,9
	B. Swiss	19	19,45	22,35	23,1	21,05	19,7	21,35
	B. Swiss	19,65	23,45	20,5	25,95	25,2	24,7	23,6



**Anexo 11.** Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición del CL por tratamiento.

Pruebas de normalidad				
Días	Grupos	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Día 6	Control	,956	10	,737
	75 mg P4	,969	9	,887
	100 mg P4	,879	10	,126
Día 8	Control	,934	10	,490
	75 mg P4	,955	9	,743
	100 mg P4	,964	10	,829
Día 10	Control	,725	10	,002
	75 mg P4	,738	9	,004
	100 mg P4	,938	10	,531
Día 11	Control	,911	10	,288
	75 mg P4	,921	9	,399
	100 mg P4	,960	10	,788
Día 12	Control	,926	10	,410
	75 mg P4	,794	9	,017
	100 mg P4	,973	10	,919
Día 14	Control	,966	10	,854
	75 mg P4	,899	9	,246
	100 mg P4	,949	10	,659
Día 16	Control	,947	10	,631
	75 mg P4	,919	9	,380
	100 mg P4	,937	10	,515

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors



**Anexo 12.** Test de Normalidad de Shapiro-Wilk en todos los días de medición del CL por raza.

Pruebas de normalidad				
	RAZA	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.
Día 6	Brahman	0,952	15	0,563
	Brown	0,885	14	0,068
	Swiss			
Día 8	Brahman	0,969	15	0,839
	Brown	0,971	14	0,891
	Swiss			
Día 10	Brahman	0,563	15	0
	Brown	0,93	14	0,303
	Swiss			
Día 11	Brahman	0,936	15	0,334
	Brown	0,933	14	0,334
	Swiss			
Día 12	Brahman	0,963	15	0,745
	Brown	0,928	14	0,29
	Swiss			
Día 14	Brahman	0,975	15	0,925
	Brown	0,961	14	0,738
	Swiss			
Día 16	Brahman	0,983	15	0,987
	Brown	0,966	14	0,817
	Swiss			
*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.				
a. Corrección de significación de Lilliefors				

**Anexo 13.** Test de Levene para homogeneidad de las varianzas en los días de medición del CL por tratamiento.

Prueba de homogeneidad de varianzas				
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Día 6	2,598	2	26	,094
Día 8	1,121	2	26	,341
Día 10	1,617	2	26	,218
Día 11	,326	2	26	,724
Día 12	,310	2	26	,736
Día 14	,457	2	26	,638
Día 16	1,167	2	26	,327



**Anexo 14.** Test de Levene para homogeneidad de las varianzas en los días de medición del CL por raza.

Prueba de homogeneidad de varianzas por razas				
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Día 6	3,72	1	27	0,064
Día 8	0,97	1	27	0,333
Día 10	0,37	1	27	0,547
Día 11	0,11	1	27	0,741
Día 12	6,23	1	27	0,019
Día 14	2,89	1	27	0,101
Día 16	0,76	1	27	0,39

**Anexo 15.** Prueba ANOVA para evaluación de morfología del CL durante los días investigados entre los tratamientos.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día 6	Entre grupos	9,046	2	4,523	1,640	0,213
	Dentro de grupos	71,715	26	2,758		
	Total	80,761	28			
Día 8	Entre grupos	13,057	2	6,529	1,739	0,195
	Dentro de grupos	97,597	26	3,754		
	Total	110,655	28			
Día 11	Entre grupos	11,875	2	5,938	,718	0,497
	Dentro de grupos	215,062	26	8,272		
	Total	226,937	28			
Día 14	Entre grupos	3,852	2	1,926	,194	0,825
	Dentro de grupos	258,574	26	9,945		
	Total	262,426	28			
Día 16	Entre grupos	2,549	2	1,275	,093	0,911
	Dentro de grupos	355,580	26	13,676		
	Total	358,129	28			





**Anexo 16.** Prueba Kruskal Wallis para evaluación de morfología del CL durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal entre los tratamientos.

Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup>		
	Día 10	Día 12
Chi-cuadrado	2,02	0,699
gl	2	2
Sig. asintótica	0,364	0,705

a. Prueba de Kruskal Wallis  
b. Variable de agrupación: TRATAMIENTO

**Anexo 17.** Prueba ANOVA para evaluación de morfología del CL durante los días investigados por raza.

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día 6	Entre grupos	18,249	1	18,249	7,882	0,009
	Dentro de grupos	62,513	27	2,315		
	Total	80,761	28			
Día 8	Entre grupos	28,11	1	28,11	9,195	0,005
	Dentro de grupos	82,545	27	3,057		
	Total	110,655	28			
Día 11	Entre grupos	92,643	1	92,643	18,626	0
	Dentro de grupos	134,294	27	4,974		
	Total	226,937	28			
Día 12	Entre grupos	130,007	1	130,007	19,591	0
	Dentro de grupos	179,174	27	6,636		
	Total	309,181	28			
Día 14	Entre grupos	142,885	1	142,885	32,273	0
	Dentro de grupos	119,54	27	4,427		
	Total	262,426	28			
Día 16	Entre grupos	234,514	1	234,514	51,223	0
	Dentro de grupos	123,614	27	4,578		
	Total	358,129	28			



**Anexo 18.** Prueba U de Mann Whitney para evaluación de morfología del CL durante los días investigados que no tuvieron una distribución normal por raza.

Estadísticos de prueba <sup>a</sup>	
	Día 10
U de Mann-Whitney	41,5
W de Wilcoxon	161,500
Z	-2,772
Sig. asintótica (bilateral)	0,006
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	,004 <sup>b</sup>
a. Variable de agrupación: RAZA	
b. No corregido para empates.	

**Anexo 19.** Chi-cuadrado en porcentaje de preñez por tratamiento.

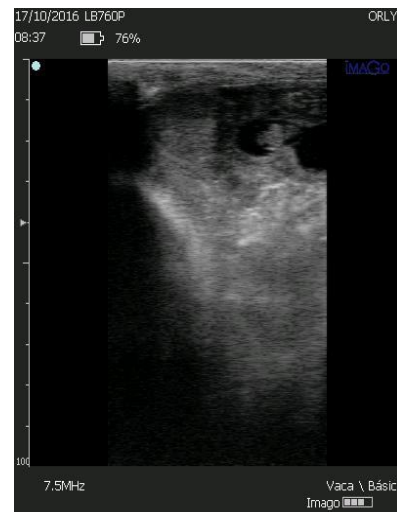
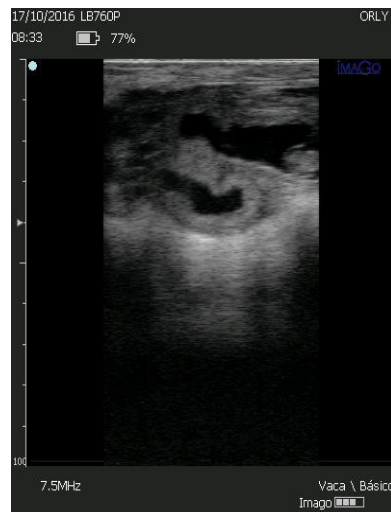
Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,203 <sup>a</sup>	2	0,904
Razón de verosimilitud	0,203	2	0,903
Asociación lineal por lineal	0,195	1	0,659
N de casos válidos	29		
a. 4 casillas (66,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 4,03.			

**Anexo 20.** Chi-cuadrado en porcentaje de preñez por raza.

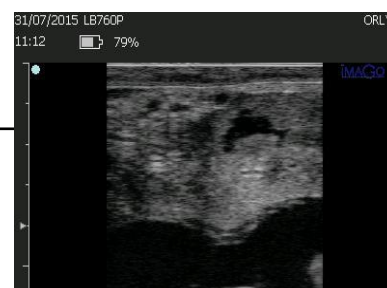
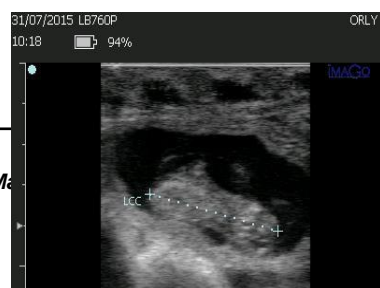
Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,077 <sup>a</sup>	2	0,962
Razón de verosimilitud	0,077	2	0,962
Asociación lineal por lineal	0	1	1
N de casos válidos	29		

a. 4 casillas (66,7%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 4,34.

## Anexo 21. Ecografía transrectal.



Diagnóstico de preñez 32 días

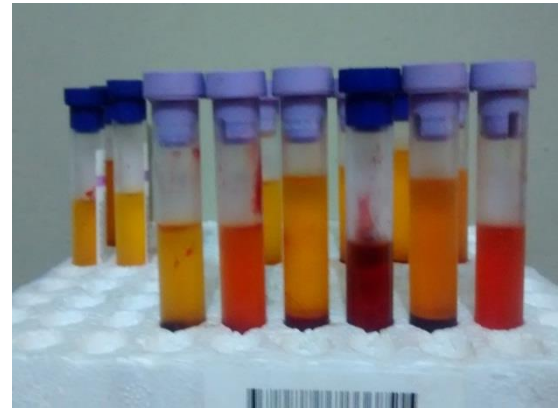


Diagnóstico de preñez 60 días

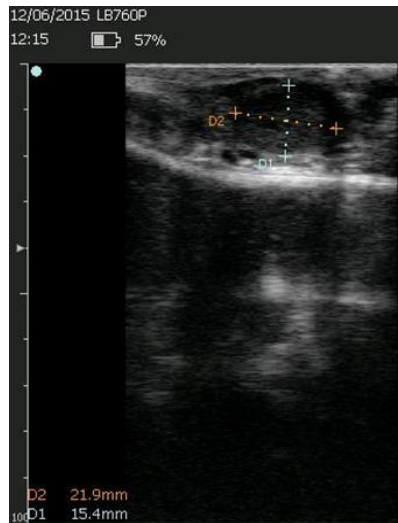
## Anexo 22. Muestreo sanguíneo



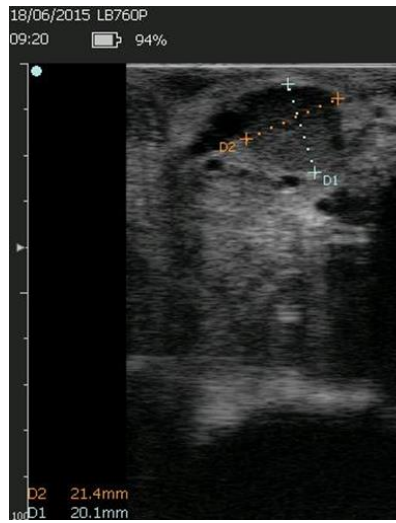
## Anexo 23. Centrifugación de muestras.



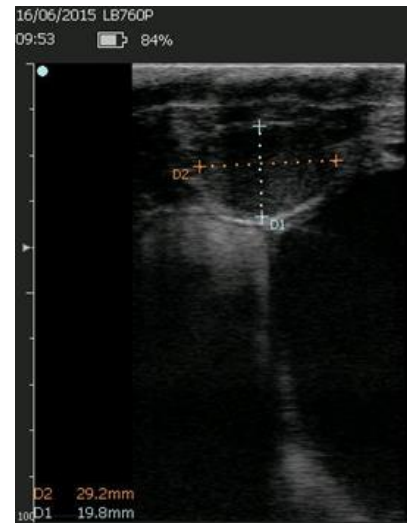
## Anexo 24. Evolución de crecimiento del CL



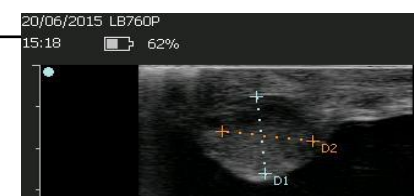
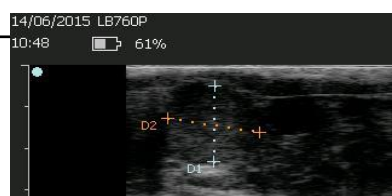
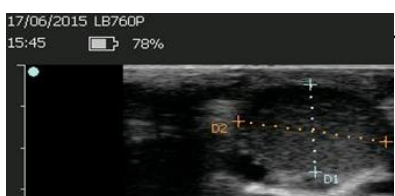
La engreída, día 6



6821, día 8



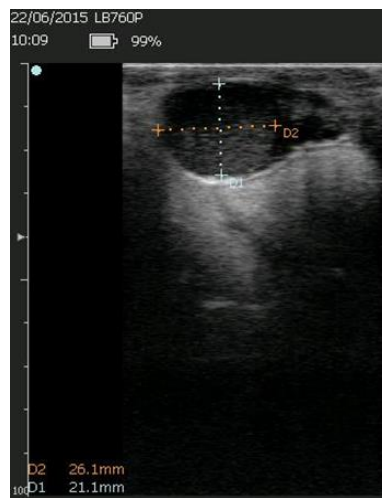
6878, día 10



6813, día 11

Pata boluda

6838, día 14



6855, día 16

